

**MODIFIKASI TEKNIK KROMATOGRAFI KOLOM
UNTUK PEMISAHAN TRIGLISERIDA DARI EKSTRAK
BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lamk.)**



Disusun oleh :

LENIA NOVIYANTI

M 0305004

SKRIPSI

**Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan mendapatkan gelar
Sarjana Sains Kimia**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA**

2010

HALAMAN PENGESAHAN

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas
Sebelas Maret Surakarta telah mengesahkan skripsi mahasiswa :

Lenia Noviyanti NIM M0305004, dengan judul "Modifikasi Teknik Kromatografi
Kolom untuk Pemisahan Triglicerida dari Ekstrak Buah Merah (*Pandanus
conoideus* Lamk.)"

Skripsi ini dibimbing oleh :

Pembimbing I

Pembimbing II

Dr.rer.nat. Fajar R. Wibowo, M.Si

M. Widyo Wartono, M.Si.

NIP. 19730605 200003 1001

NIP. 19760822 200501 1001

Dipertahankan didepan TIM Penguji Skripsi pada:

Hari : Jumat

Tanggal : 23 Juli 2010

Anggota Tim Penguji:

1. Prof. Dra. Neng Sri Suharty, M.S., Ph.D 1.....
NIP. 19490816 198103 2001
2. Drs. Patiha, M.S. 2.....
NIP. 19490131 198403 1001

Disahkan oleh:

Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Sebelas Maret

Ketua Jurusan Kimia

Prof. Dr. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D.

NIP. 19560507 198601 1001



PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul "**MODIFIKASI TEKNIK KROMATOGRAFI KOLOM UNTUK PEMISAHAN TRIGLISERIDA DARI EKSTRAK BUAH MERAH (*Pandanus conoideus* Lamk.)**" belum pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya belum pernah ditulis atau dipublikasikan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Surakarta, 12 Juli 2010

Lenia Noviyanti

MODIFIKASI TEKNIK KROMATOGRAFI KOLOM UNTUK PEMISAHAN
TRIGLISERIDA DARI EKSTRAK BUAH MERAH
(*Pandanus conoideus* Lamk.)

LENIA NOVIYANTI
Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Sebelas Maret

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pemisahan trigliserida dari ekstrak buah merah melalui modifikasi teknik kromatografi kolom. Modifikasi dilakukan dengan menambahkan alumina dan agen pengoksidasi berupa MnO_2 kedalam fasa diam silika gel. Elusi dilakukan dengan menggunakan eluen petroleum eter dan dietil eter. Fraksi yang dihasilkan kemudian diidentifikasi dengan menggunakan IR, $^1\text{H-NMR}$ dan GC-MS.

Pemisahan menggunakan fasa diam silika gel-alumina (2:3) dengan penambahan MnO_2 3% menghasilkan 4 fraksi. Identifikasi fraksi pertama menghasilkan senyawa trigliserida. Asam lemak penyusun trigliserida tersebut adalah asam oleat, asam palmitat, asam stearat dan asam palmitoleat. Trigliserida telah terpisah dari senyawa lain dalam ekstrak buah merah seperti beta-karoten dan tokoferol. Kedua senyawa tersebut merupakan senyawa antioksidan yang dapat mencegah oksidasi asam lemak tak jenuh. Antioksidan larut bersama trigliserida. Selama proses pemisahan, antioksidan melindungi trigliserida dalam ekstrak buah merah dari reaksi oksidasi. Sehingga diakhir elusi, trigliserida didapat tanpa merusak senyawa tersebut.

Kata kunci: Trigliserida, Kromatografi Kolom, Buah Merah, Antioksidan

MODIFICATION OF COLUMN CHROMATOGRAPHY TECHNIQUE FOR
TRIGLYCERIDES SEPARATION FROM RED FRUIT'S EXTRACT
(*Pandanus conoideus* Lamk.)

LENIA NOVIYANTI

Department of Chemistry, Faculty of Mathematic and Science,
Sebelas Maret University

ABSTRACT

Triglycerides separation from red fruit's extract using modification of column chromatography has been done. The modification was done by an addition of alumina and oxidizing agent such as MnO_2 into stationary phase of silica gel. Fraction was obtained from separation then determined by IR, $^1\text{H-NMR}$ and GC-MS.

Separation used stationary phase of silica gel-alumina (2:3) by an addition MnO_2 3% resulted 4 fractions. Identification of the first fraction resulted triglycerides. Oleic acid, stearic acid, palmitoleic acid and palmitic acid are fatty acids that present in the triglycerides. Triglycerides have been separated from other compound in red fruit's extract such as beta-caroten and tocopherol. Both of them are antioxidant that prevent oxidation reaction of unsaturated fatty acid. They dissolved in triglycerides. During separation process, antioxidant were protecting triglycerides of red fruit's extract from oxidation reaction. In the end of elution, triglycerides can be achieved without changed it.

Keywords: Triglycerides, Column Chromatography, Red Fruit, Antioxidant



MOTTO DAN PERSEMBAHAN

“Apapun yang bisa kamu lakukan atau kamu bayangkan kamu bisa, lakukanlah.
Didalam keberanian terdapat kejeniusan, kekuatan dan keajaiban.”

Goethe

“Kegagalan apapun yang pernah dialami, kesalahan apapun yang pernah
dilakukan, semuanya merupakan hasil tindakan tanpa pikir panjang.”

Bernard M. Banch

“Satu-satunya jalan untuk berhasil adalah melalui kegagalan. Satu-satunya
kejahatan didalam hidup adalah jika kita tidak pernah mencoba. Alih-alih
berusaha untuk tidak salah, berusahalah untuk benar.”

Thomas Edison

Aku persembahkan skripsi ini untuk :
Mamah dan Papah (Emak dan Pak Murad)

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa yang telah melimpahkan rahmat, karunia dan ijin-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini untuk memenuhi sebagian persyaratan guna mencapai gelar Sarjana Sains dari Jurusan Kimia FMIPA, UNS.

Dalam penyusunan laporan ini, penulis tidak lepas dari bimbingan, pengarahan dan bantuan dari berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis menyampaikan ucapan terima kasih pada:

1. Bapak Prof. Drs. Sentot Budi Rahardjo, Ph.D. selaku Ketua Jurusan Kimia F MIPA, Univeristas Sebelas Maret Surakarta.
2. Bapak Dr.rer.nat. Fajar Rakhman Wibowo, M.Si. selaku Pembimbing I yang dengan kesebarannya telah meluangkan waktu dalam mengarahkan dan membimbing penulis.
3. Bapak Muh. Widyo Wartono, M.Si. selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingannya.
4. Bapak/Ibu Dosen pengajar dan semua staf Jurusan Kimia.
5. Teman dan sahabat-sahabatku seperjuangan angkatan 2005 yang telah memberikan semangat.
6. Semua pihak yang telah membantu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Untuk itu penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi hasil yang lebih baik lagi. Penulis juga berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat dan member tambahan ilmu bagi pembaca. Amien.

Surakarta, 12 Juli 2010

Lenia Noviyanti

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
HALAMAN ABSTRAK.....	iv
HALAMAN ABSTRACT	v
HALAMAN MOTTO DAN PERSEMBAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	2
1. Identifikasi Masalah	2
2. Batasan Masalah.....	3
3. Rumusan Masalah	3
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II. LANDASAN TEORI	
A. Tinjauan Pustaka	5
1. Trigliserida dan Asam Lemak.....	5
2. Kromatografi	8
a. Silika gel	10
b. Alumina.....	11
3. Buah Merah.....	12
4. Senyawa Antioksidan.....	13
a. Beta-karoten	15



b. Tokoferol.....	17
5. Mangan Dioksida (MnO ₂).....	17
B. Kerangka Pemikiran.....	18
C. Hipotesis	20
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	
A. Metode Penelitian.....	21
B. Tempat dan Waktu Penelitian	21
C. Alat dan Bahan Penelitian.....	21
1. Alat.....	21
2. Bahan.....	22
D. Prosedur Penelitian.....	22
1. Penentuan Eluen dan Fasa Diam dengan KLT	22
2. Pembuatan Kolom Kromatografi	23
3. Pemisahan dengan Kolom Kromatografi	23
E. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data	24
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Penentuan Eluen dan Fada Diam dengan KLT	25
B. Pemisahan dengan Kolom Kromatografi	29
C. Identifikasi Senyawa	33
D. Pengaruh Alumina dan MnO ₂	38
E. Pengaruh Antioksidan Terhadap Lipida.....	40
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	41
B. Saran.....	41
DAFTAR PUSTAKA	42
LAMPIRAN.....	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1 Beberapa Asam Lemak Umum	6
Tabel 2 Urutan Kepolaran Eluen, Elusi Senyawa dan Kekuatan Adsorben dalam kromatografi.....	9
Tabel 3 Kandungan Sari Buah Merah	13
Tabel 4 Komposisi Asam Lemak	13
Tabel 5 Harga Rf dari Spot Hasil Pemisahan Ekstrak Buah Merah	25
Tabel 6 Harga Rf dari Spot Hasil Pemisahan dengan Silika Gel:Alumina + MnO ₂	28
Tabel 7 Fraksi yang Dihasilkan dari Modifikasi Kolom Kromatografi	30
Tabel 8 Perbandingan Data GC-MS dengan Kandungan dalam Ekstrak Buah Merah	38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1 Struktur Dasar Silika Gel	10
Gambar 2 Struktur Dasar Alumina (a) Asam, (b) Basa dan (c) Netral.....	11
Gambar 3 Buah Merah.....	12
Gambar 4 Konversi Beta-karoten	16
Gambar 5 Struktur α - tokoferol	17
Gambar 6 Hasil Elusi Ekstrak Buah Merah dengan Plat Modifikasi KLT Si:Al (1) dan Si:Al + MnO ₂ 3% (2)	27
Gambar 7 Modifikasi Kolom Kromatografi.....	29
Gambar 8 Diagram Berat Eluat Pemisahan Kromatografi Kolom	31
Gambar 9 Perbandingan Rf Plat Silika Gel dengan Rf dari Eluat	32
Gambar 10 Spektrum IR ekstrak lipida dan fraksi pertama	34
Gambar 11 Spektrum ¹ H-NMR Fraksi Pertama	35
Gambar 12 Kromatogram GC-MS untuk Fraksi Pertama	36

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Kolom Kromatografi Modifikasi.....	45
Lampiran 2 Kondisi Operasi GC-MS QP2010S Shimadzu	46
Lampiran 3 A. Hasil Analisis MS Puncak A	47
B. Hasil Analisis MS Puncak B.....	47
C. Hasil Analisis MS Puncak C.....	48
D. Hasil Analisis MS Puncak D	48
E. Hasil Analisis MS Puncak E	49
Lampiran 4 Perhitungan Rasio Beta-Karoten dan MnO ₂	50
Lampiran 5 A. Struktur Metil Palmitoleat	51
B. Struktur Metil Palmitat	51
C. Struktur Metil Oleat	51
D. Struktur Metil Stearat	52
E. Struktur Dioktil Phtalat	52

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Buah merah (*Pandanus conoideus* Lamk.) merupakan salah satu buah endemik Papua. Ekstraknya banyak dimanfaatkan sebagai obat beragam penyakit seperti kanker, hipertensi, paru-paru dan infeksi. Buah merah mengandung zat-zat alami yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan proses metabolisme. Zat-zat tersebut diantaranya adalah asam lemak seperti asam oleat, asam linoleat, asam linolenat, dekanolat, omega 3 dan omega 9 (Budi dan Paimin, 2005).

Asam lemak umumnya terdapat pada tumbuhan terutama dalam bentuk terikat ester dengan gliserol sebagai lipida yaitu triasilgliserol atau trigliserida (Hart, 2003; Smith, 2006). Ikatan tak jenuh yang ada dalam lipida merupakan pusat aktif yang dapat bereaksi dengan oksigen. Peroksidasi (auto-oksidasi) lipida dapat menyebabkan kerusakan jaringan tubuh secara *in vivo* sehingga menimbulkan beberapa penyakit seperti kanker. Efek yang merusak ini ditimbulkan oleh radikal bebas (ROO^* , RO^* , OH^*) yang dihasilkan saat pembentukan peroksida dari asam lemak. Untuk mengendalikan dan mengurangi peroksidasi lipida memerlukan antioksidan (Wirahadikusuma, 1985).

Ekstrak buah merah mengandung senyawa antioksidan dengan kandungan yang cukup tinggi yaitu beta-karoten (700 ppm), karotenoid (12.000 ppm) dan tokoferol (11.000 ppm) (Budi, 2001). Campuran karotenoid (beta-karoten) atau hubungannya dengan antioksidan lain (seperti vitamin E) dapat meningkatkan aktivitas senyawa tersebut melawan radikal bebas (Paiva, 1999).

Ekstrak lipida dari sari buah merah, yang telah terpisah dari beta-karoten, telah dipisahkan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fasa diam modifikasi yaitu berupa silika gel-alumina (2:3) dan oksidator berupa penambahan MnO_2 sebesar 0,5%. Ternyata dari hasil pemisahan yang didapat adalah suatu produk turunan lipida yaitu berupa dioktil phtalat dan bis(2-etilheksil) adipat yang merupakan suatu produk hasil reaksi oksidasi antara lipida dengan oksidator (Handayani, 2008). Sedangkan ekstrak beta-karoten dari buah

merah juga telah dipisahkan dengan menggunakan teknik modifikasi yang sama dan ternyata membutuhkan penambahan MnO_2 sebagai oksidator sebanyak 5% untuk dapat menyebabkan senyawa beta-karoten tersebut mengalami perubahan (Rumanthi, 2008).

Berdasarkan hal tersebut, pada penelitian ini akan dilakukan pemisahan trigliserida secara langsung dari ekstrak buah merah menggunakan teknik modifikasi fasa diam kromatografi dengan memperhatikan adanya pengaruh oksidator dalam fasa diam dan senyawa antioksidan dalam ekstrak buah merah. Dengan demikian, diharapkan selama pemisahan akan terjadi suatu proses yang saling berhubungan antara trigliserida, oksidator serta senyawa antioksidan.

B. Perumusan Masalah

1. Identifikasi Masalah

Buah *Pandanus conoideus* Lamk. mengandung trigliserida dan senyawa lain seperti beta-karoten dan tokoferol dengan jumlah yang cukup besar. Bila trigliserida dipisahkan dari ekstrak buah merah menggunakan teknik modifikasi fasa diam kromatografi, maka diperlukan komposisi kandungan fasa diam yang sesuai agar trigliserida dapat dipisahkan dengan baik dari senyawa lain dalam ekstrak buah merah.

Ekstrak lipida dari sari buah merah memerlukan komposisi MnO_2 sebanyak 0,5% untuk dapat berubah menjadi bentuk turunannya (Handayani, 2008). Sedangkan ekstrak beta-karoten membutuhkan MnO_2 sebanyak 5% untuk dapat berubah (Rumanthi, 2008). Bila trigliserida dipisahkan dari senyawa lain dalam ekstrak buah merah seperti beta-karoten tanpa mengubah trigliserida tersebut menjadi turunannya, maka diperlukan komposisi MnO_2 yang tepat.

Ikatan tak jenuh dari trigliserida sangat mudah teroksidasi, namun aktivitas ini dapat dicegah atau dihambat dengan adanya senyawa antioksidan. Ekstrak buah merah mengandung asam lemak tak jenuh dan senyawa antioksidan yaitu beta-karoten dan tokoferol. Bila ekstrak buah merah dilewatkan kedalam sistem modifikasi kromatografi yang reaktif, maka diduga akan mengalami beberapa reaksi seperti reaksi oksidasi. Sehingga dibutuhkan suatu metode kromatografi

yang dapat menunjukkan secara langsung tanda-tanda terjadinya suatu reaksi selama proses pemisahan menggunakan modifikasi fasa diam.

Alumina merupakan adsorben kuat yang dapat digunakan untuk pemisahan campuran lipida dan juga dapat mengakibatkan perubahan irreversibel. Alumina menyebabkan reaksi saponifikasi gliserida dan auto-oksidasi asam lemak (Schultz, 1962). Kolom alumina dapat digunakan untuk adsorpsi karotenoid (Rao, 1970). Alumina untuk kromatografi berada dalam bentuk basa (pH 9,5), asam (pH 4,5 dalam air) dan netral. Alumina basa merupakan alumina yang lebih reaktif dibandingkan dengan alumina lainnya dan dapat menyebabkan reaksi polimerisasi, kondensasi dan dehidrasi (Gordon, 1972; Cannel, 1998). Sehingga dalam modifikasi fasa diam digunakan alumina yang bersifat basa untuk dicampurkan dengan silika gel.

2. Batasan Masalah

- a. Sari buah merah yang digunakan berasal dari Papua yang diproduksi oleh I Made Budi.
- b. Metode yang dilakukan adalah kromatografi kolom dengan modifikasi fasa diam berupa silika gel dan alumina basa (2:3) dengan penambahan MnO_2 sebesar 3% dan 5%.
- c. Identifikasi produk yang dihasilkan dengan menggunakan spektroskopi infra merah (IR), spektroskopi $^1\text{H-NMR}$, dan *Gas Chromatography – Mass Spectroscopy* (GC-MS).

3. Rumusan Masalah

Apakah dapat dilakukan pemisahan trigliserida dalam ekstrak buah merah dengan menggunakan modifikasi teknik kromatografi kolom yaitu berupa penambahan alumina basa dan oksidator kedalam fasa diam silika gel, dengan memperhatikan pengaruh senyawa antioksidan dalam ekstrak tersebut.

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk memisahkan trigliserida dari ekstrak buah merah menggunakan modifikasi kolom kromatografi dengan memperhatikan adanya pengaruh senyawa antioksidan dalam ekstrak buah merah.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah memberikan informasi tentang suatu metode pemisahan trigliserida dari bahan alam menggunakan modifikasi teknik kromatografi kolom dengan memperhatikan pengaruh dari adanya suatu antioksidan didalam bahan alam.

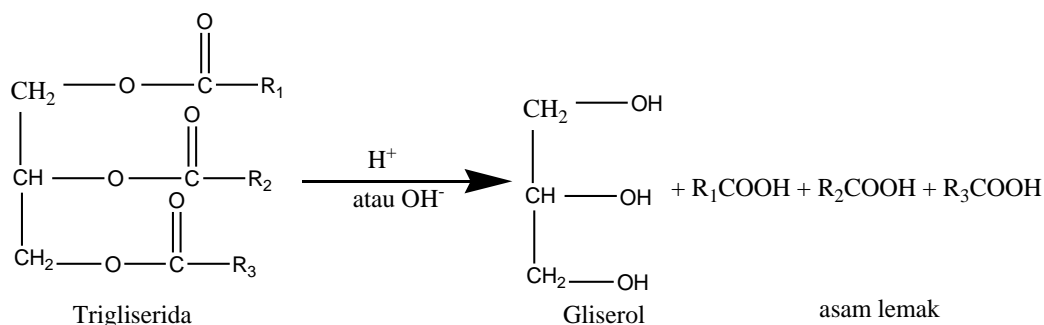
BAB II

LANDASAN TEORI

A. Tinjauan Pustaka

1. Trigliserida dan Asam Lemak

Lipida adalah senyawa organik berminyak atau berlemak yang tidak larut dalam air, yang dapat diekstrak dari sel dan jaringan oleh pelarut nonpolar, seperti kloroform atau eter. Bila mendidihkan lipida dengan alkali, lalu mengasamkan larutan yang dihasilkan, maka akan diperoleh gliserol dan campuran berupa asam lemak (*fatty acid*). Reaksi ini dikenal dengan reaksi penyabunan atau saponifikasi. Asam lemak jenuh dan tak jenuh paling lazim diperoleh dengan cara ini (Hart, 2003).



Asam lemak yang ditemukan di alam, biasanya merupakan asam-asam monokarboksilat dengan rantai tidak bercabang dan mempunyai jumlah atom karbon genap. Asam lemak mempunyai jumlah atom C genap dari C₂ sampai C₃₀. Asam lemak tidak jenuh berbeda dalam jumlah dan posisi ikatan rangkapnya, serta dalam bentuk molekul keseluruhannya dengan asam lemak jenuh. Asam lemak tak jenuh biasanya terdapat dalam bentuk *cis*. Adanya ikatan rangkap pada asam lemak tidak jenuh menimbulkan kemungkinan terjadinya isomer pada posisi ikatan rangkap (Winarno, 2002).

Jenis lipida yang paling banyak adalah lemak atau triasilgliserol. Triasilgliserol adalah ester dari alkohol gliserol dengan tiga molekul asam lemak. Triasilgliserol atau trigliserida yang hanya mengandung asam lemak jenuh merupakan padatan putih berlemak pada suhu kamar. Sedangkan trigliserida yang

mengandung tiga asam lemak tak jenuh bersifat cairan disebut minyak (Lehninger, 1982; Winarno, 2002). Minyak dan lemak merupakan pelarut vitamin A, D, E, dan K (Winarno, 2002; Smith, 2006).

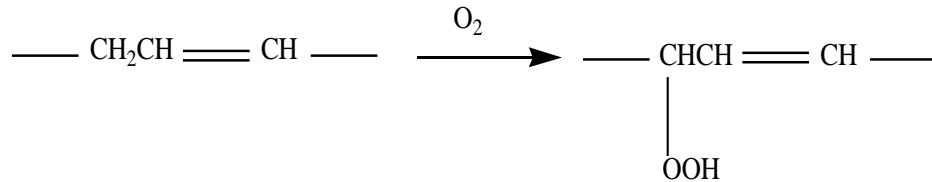
Tabel 3. Beberapa Asam Lemak Umum (Ketaren, 1986; deMan, 1997)

Nama	Rumus
Asam Lemak Jenuh	
Butirat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$
Kaproat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
Kaprilat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6\text{COOH}$
Kaprat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_8\text{COOH}$
Laurat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$
Miristat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{COOH}$
Palmitat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{COOH}$
Stearat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{COOH}$
Arakidat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{18}\text{COOH}$
Behenat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{20}\text{COOH}$
Lignoserat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{22}\text{COOH}$
Asam Lemak Tak Jenuh	
Palmitoleat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_5\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Oleat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Petroselinat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_4\text{COOH}$
Linoleat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Linolenat	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CHCH}_2\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Elaeostreatat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{CH}=\text{CHCH}=\text{CHCH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7\text{COOH}$
Arakidonat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}=(\text{CHCH}_2\text{CH})_3=\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$
Erusat	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_{11}\text{COOH}$

Warna minyak disebabkan oleh adanya pigmen, karena asam lemak dan gliseridanya tidak berwarna. Warna orange dan kuning disebabkan adanya pigmen karoten yang larut dalam minyak tersebut. Apabila minyak dihidrogenasi, maka akan terjadi pula hidrogenasi pigmen yang dikandungnya, akibatnya terjadi pengurangan warna pada minyak. Karoten tidak stabil pada suhu tinggi dan bila minyak diolah dengan menggunakan uap panas, maka karoten akan kehilangan warnanya (Ketaren, 1986).

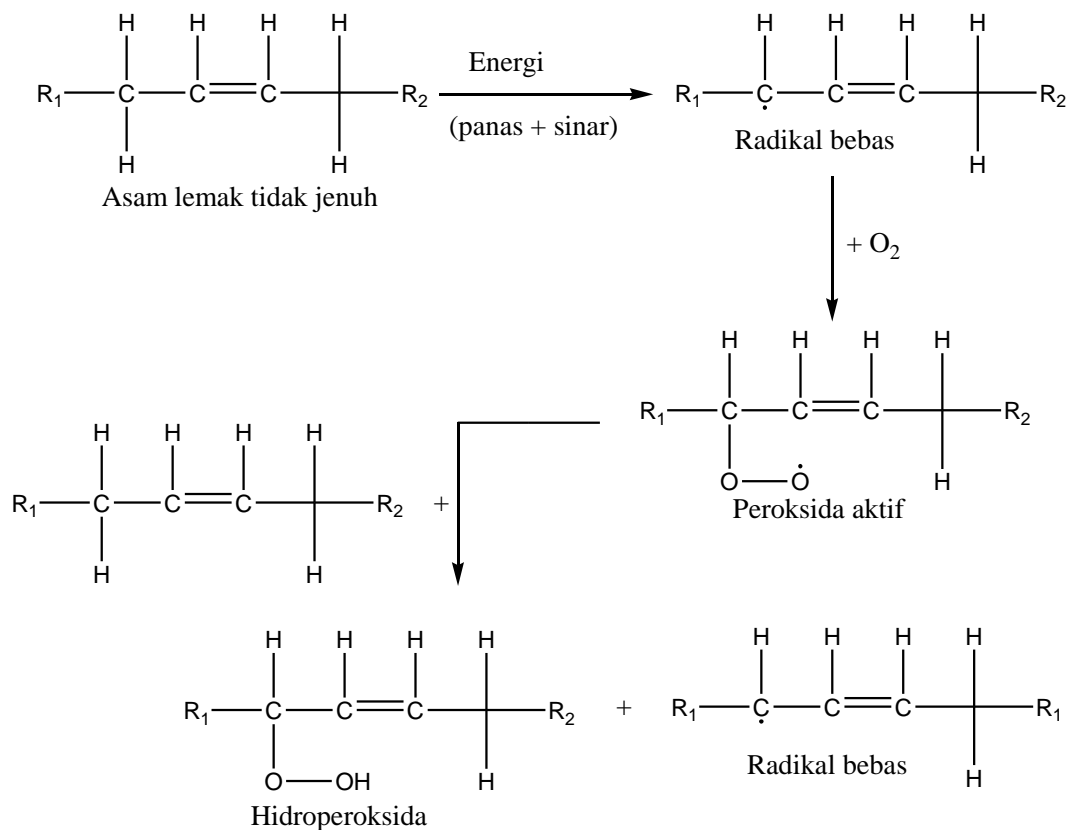
Trigliserida yang mengandung asam lemak tidak jenuh cenderung mengalami proses auto-oksidasi jika terkena udara. Auto-oksidasi asam lemak

tidak jenuh secara normal tidak terjadi didalam sel, karena adanya aktivitas hambatan dari vitamin E, enzim dan juga mungkin asam askorbat.



Akan tetapi, hal ini dapat terjadi pada beberapa penyakit, menyebabkan pembentukan lipida abnormal pada jaringan tertentu (Lehninger, 1982; Page, 1997).

Reaksi auto-oksidasi dipercepat dengan adanya faktor-faktor seperti cahaya, panas, peroksida lemak atau hidroperoksida, logam-logam berat seperti Cu, Fe, Co, dan Mn. Selain itu juga derajat ketidakjenuhan, adanya oksigen, adanya antioksidan dapat bersifat sebagai katalisator oksidasi.



Mekanisme oksidasi asam lemak tidak jenuh diawali dengan terbentuknya radikal bebas (R*) dengan melepaskan satu atom hidrogen. Reaksi ini terjadi pada

gugus metilen yang berdekatan dengan ikatan rangkap $-C=C-$. Radikal-radikal bebas asam lemak (R^*) dengan O_2 membentuk peroksida aktif (ROO^*) yang terbentuk jauh lebih besar dari konsentrasi R^* . Radikal peroksida yang terbentuk akan berikatan dengan ion hidrogen dari lipida lain untuk membentuk hidroperoksida ($ROOH$) yang bersifat sangat tidak stabil dan mudah pecah menjadi senyawa dengan rantai karbon yang lebih pendek. Senyawa dengan rantai C lebih pendek ini adalah asam-asam lemak, aldehid, dan keton yang bersifat volatil (deMan, 1997; Winarno, 2002).

Ekstrak lipida dari sari buah merah dipisahkan menggunakan teknik modifikasi kromatografi lapis tipis mengakibatkan lipida tersebut membentuk senyawa turunannya. Modifikasi dilakukan dengan menggunakan campuran fasa diam berupa silika gel dan alumina (2:3) dengan penambahan MnO_2 sebesar 0,5% serta menggunakan campuran benzene – dietil eter (19:1) sebagai eluennya. Senyawa turunan yang dihasilkan adalah berupa senyawa dioktil phtalat dan bis(2-etilheksil)adipat yang merupakan produk hasil reaksi oksidasi (Handayani, 2008)

2. Kromatografi Kolom

Kromatografi adalah proses pemisahan yang tergantung pada perbedaan distribusi campuran komponen antara fase gerak dan fase diam. Fase diam dapat berupa pembentukan kolom dimana fase gerak dibiarkan untuk mengalir (kromatografi kolom) atau berupa pembentukan lapis tipis dimana fase gerak dibiarkan untuk naik berdasarkan kapilaritas (kromatografi lapis tipis). Perlu diperhatikan bahwa senyawa yang berbeda memiliki koefisien partisi yang berbeda antara fase gerak dan diam. Senyawa yang berinteraksi lemah dengan fase diam akan bergerak lebih cepat melalui sistem kromatografi. Senyawa dengan interaksi yang kuat dengan fase diam akan bergerak sangat lambat (Christian, 1994; Skoog, 1993).

Pemisahan komponen campuran melalui kromatografi adsorpsi tergantung pada kesetimbangan adsorpsi-desorpsi antara senyawa yang teradsorb pada permukaan dari fase diam padatan dan pelarut dalam fase cair. Tingkat adsorpsi

komponen tergantung pada polaritas molekul, aktivitas adsorben, dan polaritas fase gerak cair. Umumnya, senyawa dengan gugus fungsional lebih polar akan teradsorb lebih kuat pada permukaan fase padatan. Aktivitas adsorben tergantung komposisi kimianya, ukuran partikel, dan pori-pori partikel (Braithwaite and Smith, 1995).

Tabel 4. Urutan Kepolaran Eluen, Elusi Senyawa, dan Kekuatan Adsorben Dalam Kromatografi

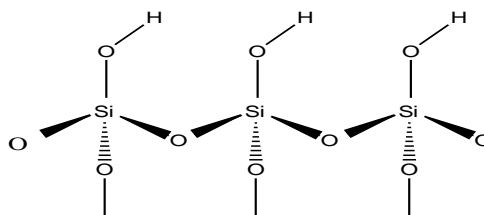
Urutan Polaritas Eluen	Urutan Elusi Senyawa	Urutan Adsorben
Petroleum eter	Hidrokarbon tak jenuh	Selulosa
Karbon tetraklorida	Alkena	Gula
Benzene	Hidrokarbon aromatik	Asam silika (silika gel)
Kloroform	Eter	Florisil (magnesium silikat)
Dietil eter	Aldehida, keton, ester	Aluminium oksida (alumina)
Etil asetat	Alkohol	
Aseton	Asam karboksilat	
Etanol		
Methanol		
Air		

Solven murni atau sistem solven tunggal dapat digunakan untuk mengelusi semua komponen. Selain itu, sistem gradient solven juga digunakan. Pada elusi gradien, polaritas sistem solven ditingkatkan secara perlahan dengan meningkatkan konsentrasi solven ke yang lebih polar. Pemilihan solven eluen tergantung pada jenis adsorben yang digunakan dan kemurnian senyawa yang dipisahkan. Solven harus mempunyai kemurnian yang tinggi. Keberadaan pengganggu seperti air, alkohol, atau asam pada solven yang kurang polar akan mengganggu aktivitas adsorben (Braithwaite and Smith, 1995).

Beberapa kombinasi heksana atau petroleum eter (40 – 60 °C, bp) dan dietil eter, biasanya dengan asam asetat (90:10:1) atau diisopropil eter dan asam asetat (98,5:1,5) umumnya digunakan untuk pemisahan lipida non polar. Mobilitas terbesar ditunjukkan oleh ester kolesterol diikuti oleh triasilgliserol, asam lemak bebas, kolesterol, diasilgliserol, monoasilgliserol (Holme, 1993).

a. Silika gel

Silika gel adalah fasa diam yang paling sering digunakan untuk pemisahan produk alam. Silika gel memberikan area permukaan yang sangat luas. Rata-rata ukuran partikel silika gel yang digunakan dalam kolom kromatografi adalah 40 – 200 μm dengan ukuran pori sebesar 40 hingga 300 Å (Cannel, 1998). Struktur dasar silika gel dapat dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Struktur Dasar Silika Gel

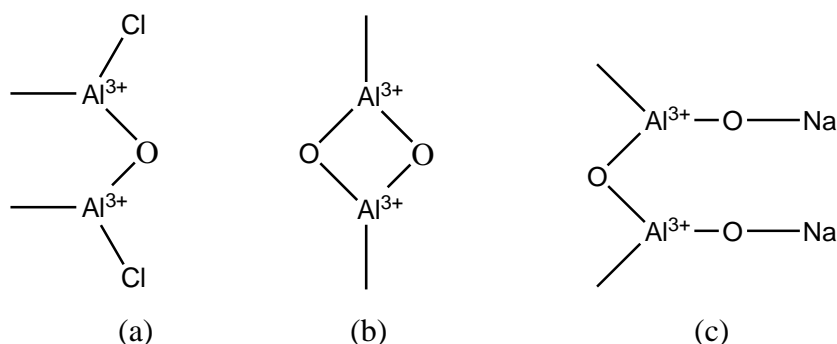
Permukaan silika gel mengandung gugus silanol. Gugus hidroksil ini adalah pusat aktif dan berpotensi dapat membentuk ikatan hidrogen yang kuat dengan senyawa yang dipisahkan. Silika gel membentuk ikatan hidrogen terutama dengan donor H seperti alkohol, fenol, amina, amida, dan asam karboksilat (Palleros, 2000). Pada umumnya, semakin kuat kemampuan ikatan hidrogen suatu senyawa, semakin kuat akan tertahan oleh silika gel.

Seberapa kuat senyawa tertahan dalam silika gel tergantung pada polaritas fase gerak. Semakin kuat kemampuan ikatan hidrogen suatu solven, semakin baik eluen untuk mengelusi senyawa polar yang teradsorb pada kolom silika gel. Pengembangan kolom biasanya meliputi peningkatan prosentase polar solven selama kromatografi berlangsung (Cannel, 1998).

Silika gel dapat digunakan untuk identifikasi kelas-kelas lipida. Pemisahan didasarkan pada interaksi (ikatan hidrogen, gaya van der waal, dan ikatan ionik) antara molekul lipida dan silika gel. Fase gerak heksana atau petroleum eter sebagai komponen utama dan aseton atau dietil eter sebagai modifikasi digunakan untuk pemisahan lipida sederhana. Retensi lipida sederhana meningkat dengan dimulai dari sterol ester, metil ester, triasilgliserol, asam lemak bebas, sterol, diasilgliserol dan monoasilgliserol (Nikolova, 2002).

b. Alumina

Alumina yang digunakan untuk kromatografi berbentuk serbuk putih. Ukuran partikel alumina berkisar 50 – 200 μm (70 – 290 mesh). Alumina dapat dihasilkan dengan permukaan asam, basa, dan netral, berdasarkan pH dari adsorben. Alumina asam mempunyai pH mendekati 4 dan paling berguna untuk pemisahan senyawa asam seperti asam karboksilat. Alumina asam dapat menyebabkan dehidrasi alkohol (terutama alkohol tersier). Alumina basa (pH mendekati 10) berguna untuk pemisahan senyawa basa seperti alkaloid. Alumina basa dapat menyebabkan hidrolisis ester. Alumina juga dapat menyebabkan hidrolisis dari lipida *alkalilabile* (Renkonsen, 1961). Alumina netral (pH mendekati 7) sering digunakan untuk pemisahan senyawa non polar seperti steroid (Cannel, 1998; Gordon, 1972).



Gambar 5. Struktur Dasar Alumina (a) Asam, (b) Netral, (c) Basa

Alumina dapat bertindak sebagai katalis superbasa dan menyebabkan isomerisasi ikatan rangkap pada olefin. Logam Na akan terionisasi dan elektron yang terlepas akan berpindah ke atom oksigen. Atom oksigen dengan muatan negatif yang lebih tinggi akan menghasilkan kemampuan donor elektron yang kuat. Atom oksigen memiliki jumlah elektron yang lebih banyak akan mempunyai kemampuan donor elektron yang lebih tinggi dan mempunyai kebiasaan yang tinggi pula (Widodo, 2002).

Alumina bila digunakan dengan eluen organik akan menyerap aromatik dan hidrokarbon tidak jenuh, karotenoid, steroid, alkaloid dan produk alam lainnya.

Alumina dapat mengkatalisis reaksi inter maupun intramolekular, terutama senyawa yang sensitif terhadap basa seperti alkali (Bratihwaite and Smith, 1995). Pemisahan beberapa lipida menggunakan kolom alumina menghasilkan peningkatan kemampuan adsorpsi dimulai dari hidrokarbon, ester kolesterol, trigliserida, kolesterol bebas, asam lemak dan fosfatida (Holme, 1993).

3. Buah Merah

Buah merah dengan nama latin *Pandanus conoideus* Lamk. termasuk dalam family Pandanaceae. Buah ini tersebar hampir diseluruh wilayah Papua terutama di pegunungan Arfak dan tumbuh didataran rendah (40 m dpl) sampai dataran tinggi (2000 m dpl). Kultivar buah berbentuk lonjong dengan kuncup tertutup daun buah. Ukurannya mencapai 102 cm, diameter 20 cm dan beratnya 4 – 7,5 kg (gambar 1). Warnanya saat matang adalah merah maroon terang (Mangan, 2005).



Gambar 1. Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk.)

Buah merah mengandung zat-zat alami yang dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh dan proses metabolisme. Diantaranya adalah karotenoid, beta-karoten, tokoferol dan asam lemak tak jenuh yang meliputi asam oleat, asam linoleat, asam linolenat dan dekanat yang berperan sebagai senyawa anti radikal bebas pengendali beragam penyakit seperti kanker, hipertensi, paru-paru, dan infeksi. Komposisi zat-zat alami tersebut dapat dilihat pada tabel 1 dan tabel 2. Selain itu buah merah juga mengandung banyak kalori yaitu mencapai 400 kkal/100 gram daging buah, kalsium, serat, protein, vitamin B1 dan C (Budi dan Paimin, 2005).

Tabel 1. Kandungan Sari Buah Merah (Budi, 2001)

Kandungan	Keterangan
Asam lemak bebas	21,96 %
Asam lemak tak jenuh (Bilangan Iod)	44,46 %
Total Karoten	12.333 ppm
Konsentrasi Beta-Karoten	500 – 800 ppm
Total Tokoferol	10.319 ppm

Tabel 2. Komposisi Asam Lemak (Budi, 2001)

Jenis Asam Lemak	Prosentase Kandungan (%)
Asam dekanat	0,035
Asam laurat	0,249
Asam miristat	0,168
Asam pentadekanat	0,292
Asam palmitat	14,336
Asam stearat	1,801
Asam palmitoleat	1,022
Asam oleat	56,213
Asam linoleat	5,257
Asam linolenat	3,248
Asam eikosanat	0,786

Beta-karoten dalam buah merah berfungsi memperlambat berlangsungnya penumpukan flek pada arteri. Interaksinya dengan protein meningkatkan produksi antibodi. Ini meningkatkan jumlah sel pembunuh alami yang dapat menekan kehadiran sel-sel kanker dan menangkal radikal bebas senyawa karsinogen penyebab kanker. Konsumsi beta-karoten rutin membuat tubuh dapat memperbanyak sel-sel alami pembasmi penyakit. Bertambahnya sel-sel tersebut akan menekan kehadiran sel kanker dengan menetralkan radikal bebas senyawa karsinogen penyebab kanker. Tokoferol (vitamin E) berfungsi hampir sama dengan beta-karoten yaitu pencegah penyakit degeneratif. Tokoferol akan mematikan serbuan radikal bebas dan menetralkan kolesterol dalam darah (Dermawan, 2005; Duryatmo, 2005; Sofia, 2005).

4. Senyawa Antioksidan

Antioksidan didefinisikan sebagai senyawa yang dapat menunda dan mencegah proses oksidasi. Antioksidan juga dinyatakan sebagai senyawa yang secara nyata dapat memperlambat oksidasi, walaupun dengan konsentrasi yang lebih rendah sekalipun dibandingkan dengan substrat yang dioksidasi. Ada empat kemungkinan mekanisme penghambatan yang terjadi yaitu (1) donor hidrogen oleh antioksidan, (2) donor elektron oleh antioksidan, (3) adisi lipida ke dalam cincin aromatis dari antioksidan, dan (4) pembentukan kompleks antara lipida dan cincin aromatis antioksidan (Schultz, 1962).

Ada dua macam antioksidan berdasarkan mekanisme kerjanya yaitu antioksidan primer dan sekunder. Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan primer, apabila dapat memberikan atom hidrogen secara cepat kepada senyawa radikal, kemudian radikal antioksidan yang terbentuk segera berubah menjadi senyawa yang lebih stabil (Winarsi, 2007; Winarno, 2002). Belleville-Nabet (1996) dalam Winarsi (2007) menyebutkan bahwa antioksidan primer bekerja dengan cara mencegah pembentukan senyawa radikal bebas baru, atau mengubah radikal bebas yang telah terbentuk menjadi molekul yang kurang reaktif.

Antioksidan sekunder disebut juga sistem pertahanan preventif. Pembentukan senyawa oksigen reaktif dihambat dengan cara pengkelatan metal, atau jika sudah terbentuk, senyawa itu dirusak. Kerja sistem antioksidan sekunder yaitu dengan cara memotong reaksi oksidasi berantai dari radikal bebas atau dengan cara menangkapnya. Antioksidan sekunder meliputi vitamin E, vitamin C, karoten, flavonoid, asam urat, bilirubin dan albumin (Winarsi, 2007).

Penambahan antioksidan (AH) dengan konsentrasi rendah pada lipida dapat menghambat atau mencegah reaksi auto-oksidasi. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap insiasi dan propagasi dengan memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipida (R^* , ROO^*) dan mengubahnya menjadi bentuk lebih stabil.

Tahap insiasi: $R^* + AH \rightarrow RH + A^*$

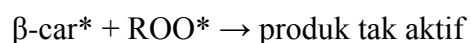
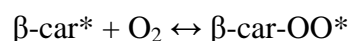
Tahap propagasi: $ROO^* + AH \rightarrow ROOH + A^*$

Sementara itu, turunan radikal antioksidan (A^*) tersebut memiliki keadaan yang lebih stabil dibanding radikal lipida dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipida lain membentuk radikal baru (Schultz, 1962, deMan, 1997).

a. Beta-karoten

Beta-karoten adalah salah satu jenis senyawa hidrokarbon karotenoid yang merupakan senyawa golongan tetraterpenoid (Winarsi, 2007). Adanya ikatan ganda menyebabkan beta-karoten peka terhadap oksidasi. Oksidasi beta-karotenakan lebih cepat dengan adanya sinar, dan katalis logam, khususnya tembaga, besi dan mangan. Oksidasi akan terjadi secara acak pada rantai karbon yang mengandung ikatan rangkap. Beta-karoten merupakan penangkap oksigen dan sebagai antioksidan yang potensial, tetapi beta-karoten efektif sebagai pengikat radikal bebas bila hanya tersedia oksigen 2 – 20 %. Pada tekanan oksigen tinggi diatas kisaran fisiologis, karoten dapat bersifat pro-oksidan (Burton, 1989).

Beta-karoten mengandung ikatan rangkap terkonjugasi yang memberikan karakter pro-oksidan, akibatnya akan sangat mudah diserang melalui penambahan radikal peroksil.



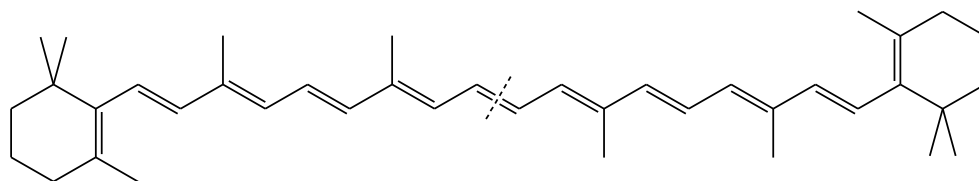
Radikal beta-karoten ($\beta\text{-car}^*$) yang terbentuk bereaksi dengan cepat dan reversible dengan oksigen untuk membentuk radikal peroksil yang baru ($\beta\text{-car-OO}^*$).

Reaktivitas beta-karoten menjadi radikal peroksil dan stabilitas pembentukan $\beta\text{-car}^*$ adalah dua gambaran penting yang memberikan molekul tersebut kemampuan antioksidan. Reaktivitas beta-karoten artinya senyawa tersebut mempunyai potensi untuk menyerang radikal peroksil yang diturunkan dari molekul lipida yang lain, walaupun ketika berada pada konsentrasi rendah. Stabilitas $\beta\text{-car}^*$ artinya adalah pada tekanan O_2 yang rendah, bentuk tersebut

dapat mendominasi seluruh bentuk radikal peroksil. Radikal β -car* dapat dilepaskan dari sistem reaksi dengan radikal peroksil yang lain (Burton, 1988).

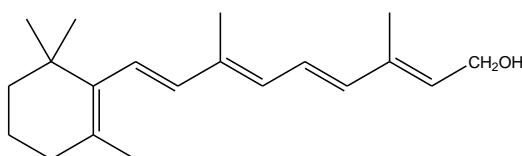
Beta-karoten memiliki 11 ikatan rangkap karbon-karbon yang terkonjugasi. Zat ini merupakan precursor biologis bagi vitamin A, yaitu alkohol tak jenuh berkarbon 20, yang juga disebut retinol. Retinol ini menghasilkan 11-cis-retinal (Gambar 2). Konversi vitamin A menjadi 11-cis-retinal tidak hanya melibatkan oksidasi gugus alkohol menjadi aldehid, tetapi juga isomerisasi trans menjadi cis pada ikatan rangkap C₁₁ – C₁₂ (Hart, 2003).

Pada penghambatan oksidasi lipida, salah satu masalah yang menarik adalah mekanisme dimana antioksidan menstabilkan vitamin A dan karoten. Struktur oksida terjadi melalui ikatan oksigen pada bagian tak jenuh dari cincin. Namun hal ini tidak terjadi pada rantai. Antioksidan fenolik menghambat oksidasi tersebut. Aktivitas vitamin A sebagai antioksidan diperkuat dengan menggunakan antioksidan fenolik (Schultz, 1962; Paiva, 1999).



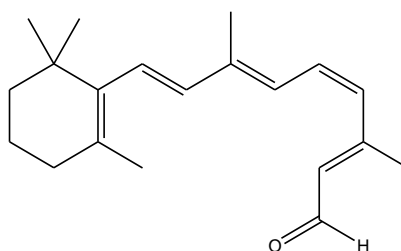
Beta-karoten

↓ [O]



Vitamin A (retinol)

↓ Enzim



11-cis-retinal

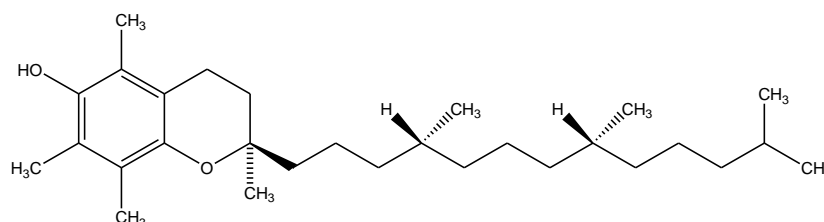
Gambar 2. Konversi Beta-karoten

Ekstrak beta-karoten dari sari buah merah juga telah dipisahkan dengan menggunakan teknik modifikasi kromatografi lapis tipis yaitu dengan menggunakan campuran fasa diam silika gel – alumina (2:3) dan penambahan MnO_2 sebesar 5% (Rumanthi, 2008).

b. Tokoferol

Tokoferol merupakan senyawa kimia yang mempunyai aktivitas vitamin E. Tokoferol dalam minyak dapat berfungsi sebagai antioksidan sehingga minyak dan karoten yang terkandung didalamnya dapat terlindungi dari oksidasi. Sebagai antioksidan tokoferol berfungsi sebagai donor hidrogen yang mampu mengubah radikal peroksil menjadi radikal tokoferol yang kurang reaktif, sehingga mampu merusak rantai asam lemak (Winarsi, 2007).

Tokoferol relatif stabil terhadap suhu tinggi, namun sensitif terhadap oksidasi (Winarno, 1991). Ada dua mekanisme berbeda untuk menunjukkan kerja vitamin E sebagai antioksidan yaitu (1) vitamin E bereaksi langsung dengan oksigen dan (2) vitamin E bekerja untuk menangkap radikal turunan asam lemak tidak jenuh dan menghentikan auto-oksidasi (Giamalva, 1985). α -tokoferol (Gambar 3) mempunyai kecenderungan menjadi pro-oksidan pada dosis tinggi dan menyebabkan tekanan oksidatif yang dapat memodulasi sinyal transduksi, mengalihkan gen dan mempengaruhi respon sel seperti perkembangbiakan, diferensiasi dan reproduksi. Untuk itu, α -tokoferol harus digunakan secara hati-hati (Gulcin, 2005).



Gambar 3. Struktur α -Tokoferol

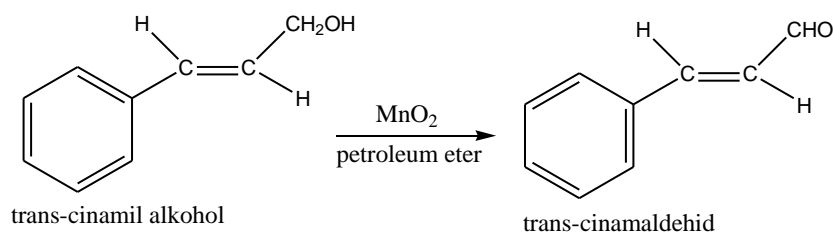
5. Mangan Dioksida (MnO_2)

Oksidasi benzil dan alil alkohol menjadi aldehid dan keton dapat dilakukan dengan menggunakan padatan mangan dioksida, MnO_2 . Kekuatan oksidasi reagen

ini tergantung pada ukuran partikel dan derajat hidrasi. Reaksi oksidasi terjadi pada permukaan oksida dan mengakibatkan pembentukan radikal sebagai intermediat. Produk samping dari reaksi ini adalah manganese (MnO).

Solven seperti petroleum eter, aseton, dan metilen klorida, dimana oksida tidak dapat larut, digunakan dalam oksidasi. Pentingnya menggunakan solven karena reaksi terjadi melalui koordinasi substrat dan reagen. Solven dapat mempengaruhi derajat adsorpsi dan desorpsi alkohol pada mangan dioksida. Jika alkohol primer atau sekunder digunakan sebagai solven, kompetisi adsorpsi situs alkohol akan mengurangi hasil produk oksidasi.

Alkohol jenuh juga teroksidasi oleh MnO_2 , tetapi dengan kecepatan yang lebih lambat dibandingkan dengan benzil atau alil alkohol. Hal ini menjadikan reagen MnO_2 kemoselektif untuk jenis alkohol ini. Benzil dan alil alkohol primer diubah menjadi aldehid sedangkan bentuk sekundernya menjadi keton.



Mangan dioksida dapat digunakan untuk mengubah vitamin A menjadi retinal dengan menggunakan petroleum eter sebagai solven (Palleros, 2000; Smith, 1946).

B. Kerangka Pemikiran

Ekstrak buah merah mengandung senyawa-senyawa aktif diantaranya adalah asam lemak yang berada dalam bentuk trigliserida dan senyawa antioksidan seperti beta-karoten dan tokoferol. Trigliserida akan dipisahkan secara langsung dari ekstrak buah merah dengan menggunakan teknik modifikasi fasa diam kromatografi kolom.

Ekstrak lipida (tanpa beta-karoten) dari sari buah merah telah dipisahkan dengan menggunakan modifikasi fasa diam yaitu berupa campuran silika gel dan alumina (2:3) dengan penambahan MnO_2 sebesar 0,5%. Eluen yang digunakan

adalah benzene – dietil eter dengan perbandingan 19:1. Namun, literatur lain menunjukkan bahwa kombinasi eluen petroleum eter dan dietil eter serta asam asetat (90:10:1) dapat memisahkan lipida non polar. Sehingga pada penelitian ini, modifikasi fasa diam yang digunakan adalah campuran silika gel – alumina dengan perbandingan yang sama yaitu 2:3. Sedangkan eluen yang akan digunakan adalah campuran petroleum eter dan dietil eter.

Ekstrak buah merah yang digunakan mengandung berbagai campuran senyawa seperti lipida dan beta-karoten. Penambahan MnO_2 sebesar 0,5% dari berat fasa diam dapat mengakibatkan ekstrak lipida (tanpa beta-karoten) membentuk turunan lipida yang merupakan hasil reaksi oksidasi. Sedangkan untuk mengubah ekstrak beta-karoten memerlukan penambahan MnO_2 sebesar 5%. Sehingga dalam penelitian ini juga akan dilakukan penambahan MnO_2 yang sesuai agar dapat memisahkan trigliserida dalam ekstrak buah merah dari beta-karoten tanpa mengubah trigliserida tersebut.

Alumina dapat menyebabkan reaksi saponifikasi gliserida dan auto-oksidasi asam lemak serta hidrolisis ester. Alumina juga dapat bertindak sebagai katalis basa yang dapat menyebabkan isomerisasi pada ikatan rangkap. Alumina dan silika gel dapat memisahkan lipida menjadi kelas-kelasnya dimulai dari trigliserida, asam lemak bebas, digliserida dan monogliserida. Sedangkan MnO_2 dapat mengoksidasi benzil dan alil alkohol menjadi bentuk aldehid dan keton.

Ekstrak buah merah dielusikan kedalam kolom, maka yang terpisah lebih dulu adalah trigliserida. Trigliserida tersebut kontak dengan alumina dan MnO_2 sehingga mengakibatkan terjadinya reaksi saponifikasi, hidrolisis dan auto-oksidasi asam lemak. Oksidasi asam lemak yang terjadi dapat dihentikan oleh antioksidan yaitu beta-karoten dan tokoferol yang mengakibatkan peroksida asam lemak menjadi stabil yaitu membentuk asam lemak (RH) dan hidroperoksida (ROOH). Hidroperoksida yang sangat tidak stabil akan terpecah menjadi senyawa organik berantai pendek seperti aldehid, keton, dan asam. Sehingga produk yang didapat dari pemisahan sekaligus pereaksian dalam kolom kromatografi adalah senyawa berupa asam lemak, aldehid, keton dan asam dengan rantai yang lebih pendek.

Mekanisme lain yang mungkin terjadi adalah trigliserida, beta-karoten dan tokoferol terpisah bersama-sama. Selama elusi, ketiga senyawa tersebut bertemu dengan oksidator. Beta-karoten dan tokoferol yang mempunyai fungsi sebagai antioksidan akan menghalangi trigliserida yang mempunyai asam lemak dengan ikatan rangkap untuk mengalami reaksi oksidasi. Sehingga selama pemisahan, trigliserida akan terlindungi dari oksidator dan dapat dipisahkan dari ekstrak buah merah tanpa merusak trigliserida tersebut.

C. Hipotesis

Berdasarkan uraian diatas dapat diambil hipotesis yaitu trigliserida dapat dipisahkan secara langsung dari ekstrak buah merah menggunakan teknik modifikasi fasa diam kolom kromatografi (penambahan alumina dan oksidator kedalam silika gel). Namun dengan adanya pengaruh fasa diam modifikasi dan antioksidan dalam ekstrak, mengakibatkan terjadi suatu reaksi yang menghasilkan produk berupa senyawa aldehid, keton, ester dan asam lemak atau trigliserida.

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

A. Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen kualitatif di laboratorium kimia. Penelitian pendahuluan berupa penentuan perbandingan eluen dan fasa diam yang digunakan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Kemudian ekstrak buah merah dipisahkan dengan menggunakan kolom kromatografi. Kolom kromatografi dan plat KLT yang digunakan telah dimodifikasi fasa diamnya yaitu dengan menambahkan alumina dan mangan dioksida (MnO_2) kedalam silika gel. Eluen yang digunakan adalah campuran petroleum eter – dietil eter.

Hasil pemisahan diidentifikasi dengan spektroskopi infra merah (IR), spektroskopi ^1H -NMR dan *Gas Chromatography – Mass Spectroscopy* (GC-MS).

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Sublab Kimia Laboratorium Pusat Universitas Sebelas Maret Surakarta. Sedangkan identifikasi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Waktu kegiatan penelitian berlangsung pada bulan Juli 2009 – April 2010.

C. Alat dan Bahan yang Digunakan

1. Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. GC-MS QP2010S Shimadzu
- b. ^1H -NMR JEOL-MY60
- c. IR Shimadzu FTIR Prestige 21
- d. *TLC Plate Coater*
- e. *TLC Chamber*

- f. Kolom Kromatografi Tekan
- g. Lampu UV 254 nm
- h. Peralatan Gelas

2. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

- a. Ekstrak buah merah produksi I Made Budi
- b. *Silica Gel* 60 GF₂₅₄ for TLC (E.Merck)
- c. *Aluminiumoxid* 150 basisch (Typ T)
(alumina untuk KLT) (E.Merck)
- d. *Silica Gel* 60 (0.063 – 0.200 mm) (E.Merck)
- e. *Aluminiumoxid* 60 active basisch (aktivitätsstufe I)
(alumina untuk kromatografi kolom) (E.Merck)
- f. Plat TLC *Silica Gel* 60 F₂₅₄ (E.Merck)
- g. MnO₂ (E.Merck)
- h. Dietil eter p.a. (E.Merck)
- i. Petroleum eter p.a. (E.Merck)
- j. Rhodamin B
- k. Aquades

D. Prosedur Penelitian

1. Penentuan Eluen dan Fasa Diam dengan KLT

Sejumlah adsorben yang akan digunakan untuk pelapis dibuat bubur dengan sejumlah pelarut. Adsorben yang digunakan sebagai fasa diam adalah silika gel yang ditambahkan dengan alumina dengan perbandingan silika gel – alumina sebesar 2:3 serta dengan penambahan MnO₂ masing-masing sebanyak 3% dan 5% dari berat total fasa diam. Terlebih dulu silika gel diaktivasi dengan pemanasan pada suhu 110 – 125 °C sedangkan alumina diaktivasi pada suhu 125 – 150 °C selama beberapa jam.

Campuran fasa diam kemudian dibuat bubur dengan menggunakan aquades dan diratakan pada plat kaca dengan menggunakan alat *TLC Plate Coater*. Setelah

adsorben pada plat kaca rata, plat lapis tipis yang terbentuk didiamkan selama 30 menit dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100 – 120 °C selama 1 jam. Plat yang telah kering didinginkan dan disimpan dalam desikator.

Ekstrak buah merah ditotolkan pada plat KLT modifikasi (silika gel : alumina, 2 :3, dan MnO₂) yang telah dibuat. Sebagai pembandingnya, ekstrak buah merah juga ditotolkan pada plat *TLC silica gel* 60 F₂₅₄ dan plat KLT dengan fasa diam silika gel:alumina (2:3). Masing-masing plat kemudian dielusikan dengan menggunakan larutan pengembang berupa petroleum eter:dietil eter dengan perbandingan 7:3, 3:2, dan 1:1. Untuk mengidentifikasi adanya spot lipida pada plat modifikasi, plat yang telah dielusi dikeringkan, kemudian disemprot dengan 0,5% rhodamin B dalam etanol dan diletakkan dibawah sinar UV. Spot yang akan tampak adalah spot berwarna kuning atau berwarna ungu kebiruan ketika dilihat dibawah sinar UV.

2. Pembuatan Kolom Kromatografi

Fasa diam yang digunakan sebagai adsorben dalam kolom adalah silika gel yang dimodifikasi dengan penambahan alumina (silika gel : alumina, 2:3) dan MnO₂ 3%. Sebelumnya silika gel diaktivasi dengan pemanasan pada suhu 110 – 125 °C sedangkan alumina diaktivasi pada suhu 125 – 150 °C selama 24 jam.

Campuran adsorben dimasukkan kedalam kolom dalam keadaan kering, dimana sebelumnya kolom telah diisi dengan pelarut petroleum eter hingga mencapai setengah panjang kolom. Campuran adsorben dimasukkan ke dalam kolom tiap 3 gram untuk menghasilkan lapisan-lapisan fasa diam. Keran pada kolom dibiarkan terbuka agar pelarut dapat keluar. Kemudian kolom dikeringkan dari pelarut hingga mencapai 1 cm batas atas permukaan fasa diam.

3. Pemisahan dengan Kolom Kromatografi

Sampel berupa ekstrak buah merah dimasukkan kedalam kolom dan dibiarkan terserap kedalam fasa diam. Teknik elusi yang digunakan adalah teknik elusi gradien menggunakan petroleum eter:dietil eter dengan perbandingan eluen

dimulai dari 7:3, 3:2 dan 1:1. Eluat yang dihasilkan kemudian ditampung dalam vial-vial tiap 2 mL dan dikeringkan dari pelarutnya.

Eluat yang telah kering dari pelarut atau eluen kemudian ditimbang dan diuji dengan KLT. Nilai Rf yang dihasilkan dibandingkan dengan nilai Rf dari plat KLT silika gel awal. Nilai Rf yang sama dikumpulkan kemudian fraksi yang dihasilkan diidentifikasi dengan menggunakan IR, $^1\text{H-NMR}$ dan GC-MS.

E. Teknik Pengumpulan dan Analisis Data

1. Pengumpulan Data

Penentuan fasa diam dan eluen dengan menggunakan KLT akan diperoleh data berupa spot-spot hasil pemisahan untuk tiap perbandingan eluen petroleum eter dan dietil eter dan penambahan MnO_2 dalam fasa diam, yang selanjutnya hasil pemisahan yang baik akan digunakan dalam pemisahan kromatografi kolom.

Pemisahan dengan menggunakan kolom kromatografi akan dihasilkan eluat. Tiap eluat diuji dengan KLT dan menghasilkan nilai Rf yang kemudian dibandingkan dengan nilai Rf awal. Fraksi yang sama dikumpulkan dan kemudian dilakukan identifikasi.

2. Analisis Data

a. *Infrared Spectroscopy* (IR)

Identifikasi dengan IR dilakukan untuk menentukan gugus fungsi dari senyawa-senyawa yang ada dalam fraksi yaitu dengan membandingkan frekuensi puncak-puncak yang dihasilkan pada spectra IR dengan frekuensi standar yang ada.

b. $^1\text{H-Nuclear Magnetic Resonance}$ ($^1\text{H-NMR}$)

Identifikasi dengan $^1\text{H-NMR}$ digunakan untuk mengetahui adanya pergeseran dari proton-proton hidrogen yang ada pada senyawa didalam fraksi

c. *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS)

Identifikasi dengan GC-MS digunakan untuk memperkirakan senyawa-senyawa yang dihasilkan.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Penentuan Eluen dan Fasa Diam dengan KLT

Pemisahan trigliserida dari ekstrak buah merah menggunakan modifikasi teknik kromatografi kolom diawali dengan penentuan komposisi fasa diam dan eluen yang akan digunakan. Penentuan ini dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Eluen yang akan digunakan dalam kromatografi kolom ditentukan dengan menggunakan plat *TLC silica gel* 60 F₂₅₄. Eluen yang digunakan adalah campuran petroleum eter dan dietil eter dengan perbandingan 19:1, 7:3, 3:2, 1:1, 2:3, dan 3:7. Perbandingan eluen yang akan digunakan ditentukan dari jumlah spot yang dihasilkan. Spot yang dihasilkan dari plat KLT mengalami *tailing*. Hal ini dikarenakan ekstrak buah merah berbentuk minyak yang sangat pekat. Pemisahan dengan jumlah spot yang lebih banyak didapat adalah dengan menggunakan perbandingan eluen 7:3 (5 spot), 3:2 (6 spot), dan 1:1 (5 spot) (tabel 5).

Tabel 5. Harga R_f dari Spot Hasil Pemisahan Ekstrak Buah Merah

Fasa diam							
Silika Gel						Silika gel : Alumina (2:3)	
7:3*	Warna	3:2*	Warna	1:1*	Warna	7:3*	Warna
0,98	Merah	0,97	Merah	0,97	Merah	-	-
0,92	Merah	-	-	-	-	0,93	Merah orange
0,87	Merah	0,89	Merah	0,89	Merah	-	-
-	-	0,82	Merah	0,84	Kuning	-	-
0,66	Merah	0,67	Kuning	0,56	Kuning	0,67	Merah Pekat
-	-	0,42	Kuning	-	-	0,40	Merah kekuningan
0,10	Merah muda	0,16	Merah muda	0,27	Merah Muda	0,29	Merah Muda

*Perbandingan eluen PE:Dietil eter

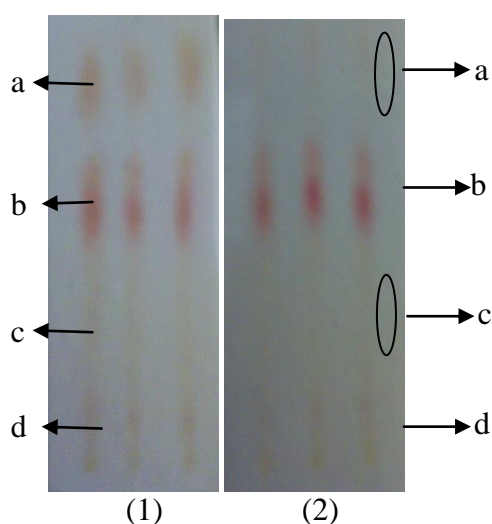
Fasa diam dalam teknik modifikasi kromatografi kolom adalah silika gel yang dicampur dengan alumina. Alumina yang digunakan adalah alumina basa

yang mendekati pH 10. Untuk mengetahui pengaruh dari alumina dalam fasa diam tersebut terhadap hasil pemisahan, maka dilakukan pemisahan dengan menggunakan campuran fasa diam silika gel:alumina. Perbandingan campuran silika gel dan alumina yang digunakan adalah 2:3. Eluen yang digunakan dalam pemisahan ini adalah campuran eluen petroleum eter dan dietil eter dengan perbandingan yang didapat dari pemisahan dengan menggunakan plat silika gel yaitu 7:3. Hasil pemisahan dengan dapat dilihat pada tabel 5.

Pemisahan dengan menggunakan fasa diam silika gel menghasilkan 5 – 6 spot untuk tiap perbandingan eluen. Jumlah spot berwarna merah pada eluen 7:3 lebih banyak dibandingkan dengan eluen lainnya. Trigliserida dan beta-karoten merupakan senyawa non-polar yang saling bercampur satu sama lain. Kedua senyawa tersebut dapat larut dalam eluen petroleum dan dietil eter. Pada perbandingan eluen 7:3, trigliserida diduga telah terpisah dari asam lemak bebas, namun karena perbandingan eluen yang sifatnya kurang polar sehingga beta-karoten masih bercampur dengan kedua komponen tersebut. Sehingga pemisahan antara trigliserida dengan asam lemak tidak terlihat jelas. Namun, ketika perbandingan eluen ditingkatkan sehingga menjadikan eluen bersifat lebih polar, terdapat spot berwarna kuning yang telah terpisah dari beta-karoten yang diindikasikan sebagai asam lemak bebas.

Alumina yang ada dalam fasa diam silika gel mengakibatkan spot yang dihasilkan menjadi lebih sedikit dibandingkan dengan menggunakan plat silika gel. Alumina merupakan fasa diam yang bersifat polar. Jika alumina dicampur dengan silika yang juga bersifat polar, maka sifat polar dari fasa diam akan semakin kuat. Hal ini mengakibatkan senyawa-senyawa dalam ekstrak buah merah yang bersifat polar akan semakin tertahan didalam fasa diam sedangkan senyawa non polar akan terelusi lebih cepat. Akibatnya adalah ada beberapa spot yang tampak pada plat silika gel terkumpul menjadi satu spot pada plat silika gel:alumina. Selain itu juga, warna yang dihasilkan dari tiap spot menunjukkan bahwa dalam tiap spot masih terdapat beta-karoten walaupun warna untuk spot pertama lebih pudar. Alumina dapat menyerap senyawa karotenoid. Hal ini dapat mengakibatkan beta-karoten akan lebih tertahan dalam fasa diam.

Teknik modifikasi kromatografi kolom juga menggunakan oksidator berupa MnO_2 dalam campuran fasa diam silika gel : alumina. Modifikasi teknik KLT menggunakan fasa diam yang sama untuk ekstrak lipida memerlukan oksidator MnO_2 sebesar 0,5% untuk dapat memisahkan lipida sebagai senyawa turunannya (Handayani, 2008). Sedangkan bila menggunakan ekstrak beta-karoten membutuhkan oksidator sebanyak 5% untuk dapat mengubah senyawa beta-karoten tersebut (Rumanthi, 2008).



Gambar 6. Hasil Elusi Ekstrak Buah Merah dengan Plat Modifikasi KLT Si:Al (1) dan Si:Al + MnO_2 3% (2)

Ekstrak buah merah mengandung berbagai macam senyawa seperti trigliserida, beta-karoten dan tokoferol, sehingga harus dicari komposisi oksidator yang sesuai agar dapat memisahkan trigliserida dari senyawa-senyawa lainnya. Komposisi oksidator yang digunakan adalah 3% dan 5% dari berat total fasa diam. Hasil pemisahan dari fasa diam modifikasi yaitu terdiri dari silika gel:alumina dengan penambahan MnO_2 3% yang dibandingkan dengan hasil pemisahan dengan plat silika gel:alumina dapat dilihat pada gambar 6. Sedangkan untuk perbandingan hasil pemisahan trigliserida dari ekstrak buah merah menggunakan komposisi MnO_2 3% dan 5% dapat dilihat pada tabel 6.

MnO₂ didalam campuran fasa diam silika gel dan alumina dapat menyebabkan perubahan pada pemisahan yang dihasilkan. Pada spot a telah terbebas dari beta-karoten yang artinya beta-karoten telah bereaksi dengan oksidator yang menyebabkan beta-karoten berubah dan terpisah dari trigliserida. Spot a dapat diidentifikasi dengan disemprot dengan menggunakan rhodamin B dan dilihat dengan menggunakan lampu UV. Rhodamin B adalah reagen yang digunakan untuk menguji adanya trigliserida dan asam lemak (Jork, 1990). Dengan demikian, spot pertama dan ketiga pada plat modifikasi merupakan senyawa trigliserida dan asam lemak.

Tabel 6. Harga Rf dari Spot Hasil Pemisahan dengan Silika Gel : Alumina+ MnO₂

Fasa Diam						Warna
Si : Al + MnO ₂ 3%			Si : Al + MnO ₂ 5%			
7 : 3*	3 : 2*	1 : 1*	7 : 3*	3 : 2*	1 : 1*	
0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	0,98	**
0,64	0,80	0,86	0,72	0,77	0,88	Merah
0,36	0,54	0,60	0,50	0,60	0,62	Kuning
0,16	0,30	0,32	-	-	-	Merah muda
-	0,20	0,16	0,20	0,25	0,23	**

*Perbandingan eluen PE : Dietil eter

** Identifikasi Rhodamin B dan lampu UV

Komposisi oksidator MnO₂ yang semakin banyak pada campuran fasa diam, mengakibatkan perubahan yang cukup signifikan pada beta-karoten. Spot berwarna merah muda pada plat yang menggunakan MnO₂ 5% tidak muncul bila dibandingkan dengan plat dengan MnO₂ 3%. Warna merah pada spot yang merupakan warna dari beta-karoten pada plat MnO₂ 5% hanya ditunjukkan oleh satu spot saja. Pada plat MnO₂ 3% terdapat dua spot untuk beta-karoten yaitu spot merah dan merah muda. Sehingga hanya dengan menggunakan komposisi MnO₂ sebanyak 3% dari berat fasa diam, sudah dapat memisahkan lipida dari senyawa lain dalam ekstrak buah merah seperti beta-karoten.

Berdasarkan penentuan eluen dan komposisi fasa diam, kemudian dilakukan pemisahan trigliserida dari ekstrak buah merah dengan menggunakan teknik modifikasi kromatografi kolom. Fasa diam yang digunakan adalah silika gel :

alumina dengan penambahan MnO_2 sebesar 3% dengan eluen berupa campuran petroleum eter dan dietil eter dengan perbandingan 7:3, 3:2, dan 1:1.

B. Pemisahan dengan Kolom Kromatografi

Kolom kromatografi yang digunakan adalah kolom yang telah dimodifikasi dengan menggunakan fasa diam silika gel - alumina (2:3) ditambahkan dengan MnO_2 3%. Kolom modifikasi ini dibuat dengan metode kering yaitu dengan memasukkan campuran fasa diam kedalam kolom yang telah berisi pelarut. Campuran tersebut tidak dibuburkan terlebih dulu, tetapi langsung dimasukkan dalam keadaan kering. Penggunaan metode kering dikarenakan ukuran dari partikel MnO_2 yang lebih kecil dibandingkan dengan silika gel dan alumina mengakibatkan MnO_2 selalu berada diatas sehingga tidak dapat bercampur sempurna (homogen). Selain itu, berat dari MnO_2 lebih ringan dibandingkan dengan silika gel dan alumina sehingga bila fasa diam dimasukkan kedalam kolom, MnO_2 akan selalu tertinggal paling atas.



Gambar 7. Modifikasi Kolom Kromatografi

Kondisi fasa diam yang sulit untuk bercampur (homogen) mengharuskan untuk menggunakan suatu teknik yang dapat membuat fasa diam hampir mendekati homogen seperti pada plat modifikasi KLT. Teknik yang digunakan adalah memasukkan campuran fasa diam sedikit demi sedikit. Fasa diam yang akan terbentuk adalah fasa diam yang membentuk lapisan-lapisan seperti pada

gambar 7. Dengan teknik ini, fasa diam yang dihasilkan hampir mendekati homogen sama seperti pada KLT modifikasi. Data-data mengenai kolom kromatografi modifikasi yang dihasilkan dapat dilihat pada lampiran 1.

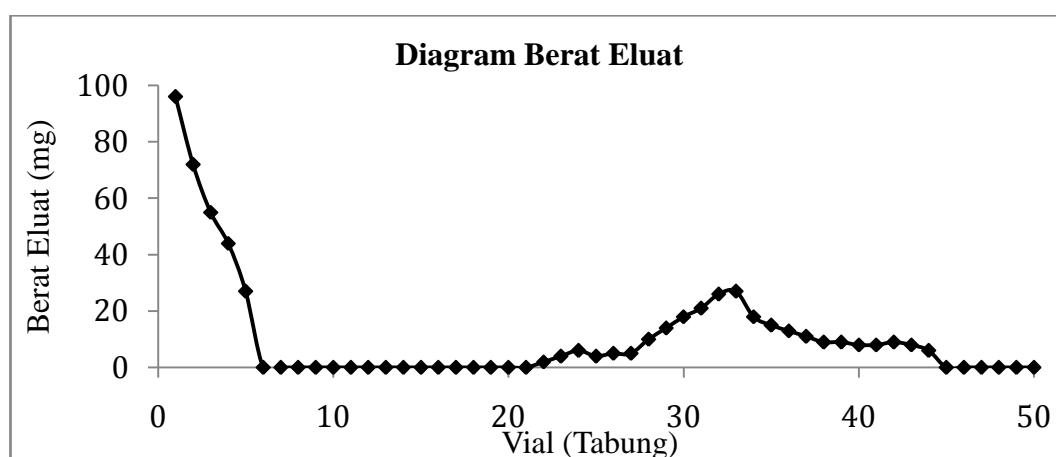
Eluen yang digunakan adalah petroleum eter dan dietil eter dengan perbandingan 7:3, 3:2, dan 1:1. Teknik elusi yang digunakan adalah teknik elusi gradien yaitu dimulai dari perbandingan petroleum eter:dietil eter sebesar 7:3. Kolom yang digunakan disini adalah kromatografi kolom tekan, sehingga kecepatan alir dari eluen dapat diatur. Dalam pemisahan dengan kolom modifikasi ini, kecepatan alir yang digunakan sekecil mungkin yang artinya bahwa elusi yang terjadi berjalan lambat. Hal ini bertujuan untuk memaksimalkan pemisahan dan reaksi yang terjadi antara fasa diam kolom modifikasi dengan sampel. Ketika menggunakan kecepatan alir yang kecil, tekanan didalam semakin besar, sehingga pemisahan yang terjadi menjadi lebih baik.

Ekstrak buah merah diletakkan didalam kolom dan dibiarkan terjerap kedalam fasa diam terlebih dulu sebelum dilakukan elusi. Pada saat pengelusan yang terjadi adalah fraksi berwarna merah terpisah lebih dulu yang merupakan campuran trigliserida, asam lemak dengan beta-karoten. Setelah elusi berlangsung lebih lama, warna merah dari beta-karoten kemudian sedikit demi sedikit menjadi pudar. Ini menandakan bahwa beta-karoten sudah mulai bereaksi dengan fasa diam. Kemudian terbentuk pemisahan berwarna kuning setelahnya dan lama-kelamaan warna-warna dari pemisahan-pemisahan tersebut menjadi hilang secara keseluruhan.

Tabel 7. Fraksi yang Dihasilkan dari Modifikasi Kolom Kromatografi

Fraksi	Vial Eluat	Warna	Nilai Rf	Berat Fraksi
1	1 – 5	Kuning muda bening	0,87 – 0,94	294 mg
2	5 – 21	Tak berwarna	Tidak tampak noda	-
3	22 – 44	Kuning tua	0,57 – 0,68	256 mg
4	45 – 52	Tak berwarna	Tidak tampak noda	-

Eluat yang ditampung tidak berwarna. Untuk mempermudah dalam pengidentifikasian, tiap eluat ditampung didalam vial sebanyak 2 mL. Kemudian eluat-eluat tersebut diuapkan dari pelarutnya dan ditimbang serta diuji dengan menggunakan plat KLT silika gel. Eluen yang digunakan adalah petroleum eter dan dietil eter dengan perbandingan 3:2. Berat yang didapat dari fraksi yang dihasilkan dapat dilihat pada gambar 8 sedangkan harga Rf dari tiap fraksi dapat dilihat pada tabel 7.

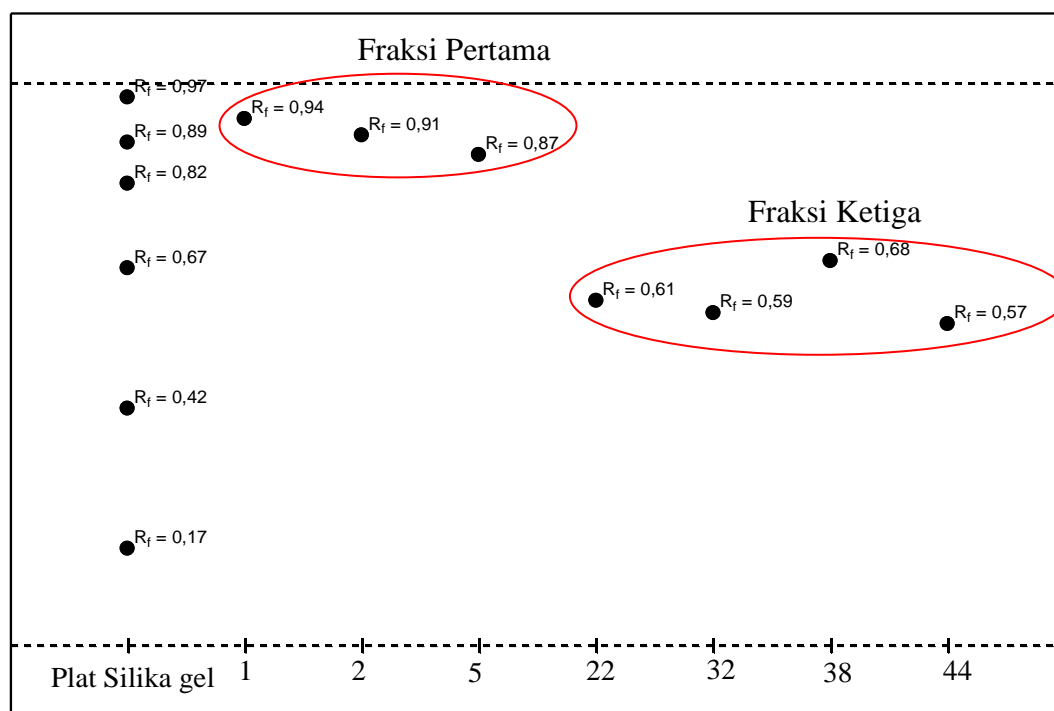


Gambar 8. Diagram Berat Eluat Pemisahan Kromatografi Kolom

Diagram berat eluat dari pemisahan kolom modifikasi menghasilkan dua puncak yang kemudian eluat yang membentuk kedua puncak tersebut dikumpulkan menjadi satu sehingga didapat dua fraksi. Sedangkan untuk harga Rf dari eluat disesuaikan dengan harga Rf pada plat KLT silika gel awal dengan eluen yang sama. Perbandingan Rf eluat dengan Rf pada plat silika gel awal dapat dilihat pada gambar 9. Eluat dengan harga Rf yang sama kemudian dikumpulkan menjadi satu sehingga didapat dua fraksi. Fraksi yang didapat dari hasil diagram berat dan harga Rf adalah dua fraksi dengan kumpulan vial yang sama.

Fraksi pertama yang dihasilkan berbentuk cairan seperti minyak berwarna kuning muda bening sedangkan fraksi ketiga berwarna kuning tua. Wujud dan warna dari fraksi pertama menunjukkan bahwa fraksi tersebut merupakan senyawa trigliserida. Sedangkan fraksi ketiga yang berwarna kuning merupakan

senyawa asam lemak. Fraksi kedua dan keempat tidak menunjukkan adanya spot pada pengujian dengan KLT. Dari diagram berat fraksi juga menunjukkan bahwa fraksi tersebut telah habis. Fraksi kedua dan keempat merupakan beta-karoten yang telah habis bereaksi dengan oksidator sehingga tidak terdeteksi dengan menggunakan plat KLT.



*Bentuk spot tidak sama dengan hasil sebenarnya

Gambar 9. Perbandingan Rf Plat Silika Gel Awal dengan Rf dari Eluat

Penggunaan kolom kromatografi tekan dengan kecepatan alir yang lambat mengakibatkan beta-karoten bereaksi dengan sempurna dengan MnO_2 . Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya beta-karoten pada eluat-eluat yang ditampung. Yang terjadi adalah beta-karoten yang kontak dengan MnO_2 mengalami reaksi dan menghasilkan suatu produk oksidasi. Produk tersebut kemudian kontak dengan udara yang dihasilkan oleh aerator pada kolom kromatografi tekan atau terkena sinar sehingga mengakibatkan produk tersebut menjadi rusak dan hilang.

Pada saat penampungan eluat, dikarenakan eluat yang berwarna bening, sehingga ada eluat yang tidak tertampung diawal. Eluat tersebut diberi tanda

sebagai eluat vial ke-0 (nol). Berat dari eluat yang telah diuapkan pada vial tersebut adalah 439 mg dan harga Rf dari eluat tersebut adalah 0,96 sehingga vial ke-0 tersebut dikumpulkan dengan fraksi pertama. Total berat dari fraksi pertama adalah 733 mg.

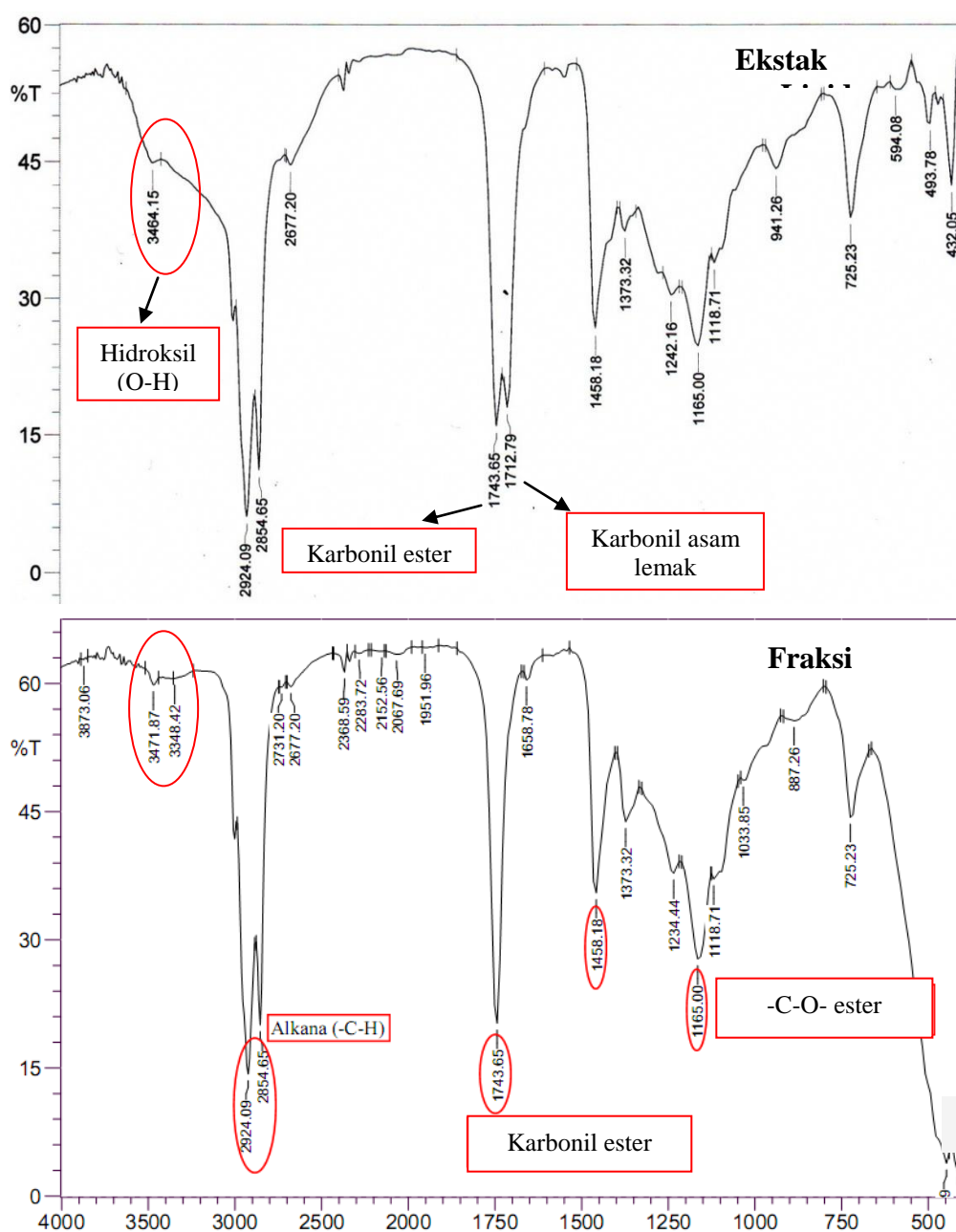
Fraksi pertama dari kolom kromatografi modifikasi berbentuk cairan kuning bening diindikasikan sebagai trigliserida. Kemudian fraksi tersebut diidentifikasi kandungan senyawanya dengan menggunakan IR, $^1\text{H-NMR}$ dan GC-MS. Hal ini didasari dari pertimbangan bahwa fraksi pertama yang merupakan trigliserida, bersama-sama dengan beta-karoten dan senyawa-senyawa lain dalam ekstrak buah merah, mengalami kontak pertama kali dengan fasa diam modifikasi dan kemudian terpisah lebih dulu dari dalam kolom sehingga dapat diketahui pengaruh dari oksidator MnO_2 terhadap senyawa trigliserida tersebut. Selain itu pertimbangan lainnya adalah bahwa fraksi pertama memiliki berat yang cukup banyak untuk dapat dilakukan identifikasi lebih lanjut.

C. Identifikasi Senyawa

Fraksi pertama dari kolom kromatografi modifikasi diidentifikasi dengan menggunakan IR. Hal ini dilakukan untuk mengetahui atau menetapkan jenis ikatan (gugus fungsi) yang ada dalam molekul. Fraksi diuji dalam keadaan 'neat', yaitu dalam keadaan cair tanpa pelarut. Spektra yang dihasilkan dari analisis IR dapat dilihat pada gambar 10.

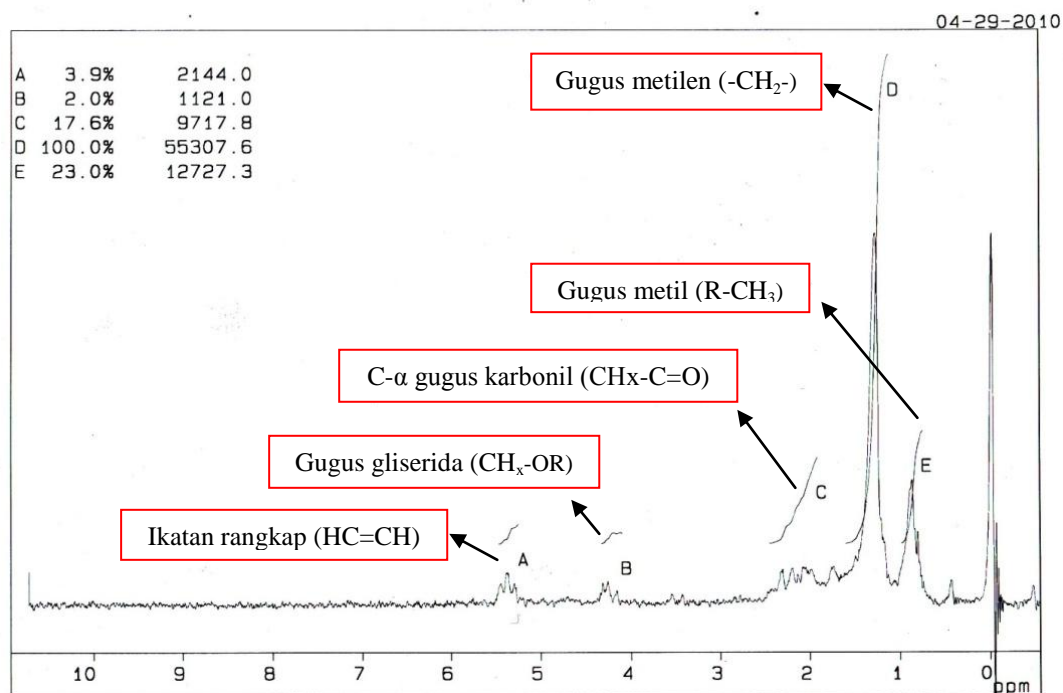
Spektra IR dari fraksi pertama menunjukkan serapan dari uluran C-H pada alkana terletak pada $3000 - 2840 \text{ cm}^{-1}$. Pada daerah $2924,09 \text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan yang dihasilkan dari uluran tak simetris dari gugus metilena ($-\text{CH}_2-$) pada alkana. Sedangkan pada daerah serapan $2854,65 \text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan uluran simetris dari gugus metilena ($-\text{CH}_2-$). Serapan pada daerah $725,23 \text{ cm}^{-1}$ adalah pita serapan yang dihasilkan dari gugus metilena untuk alkana rantai lurus yang terdiri dari tujuh atom karbon atau lebih. Pada serapan $1458,18 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya serapan getaran tekuk tak simetris dari metil ($-\text{CH}_3$) sedangkan untuk getaran tekuk simetris berada pada daerah $1373,32 \text{ cm}^{-1}$.

Spektra IR juga menunjukkan adanya pita serapan uluran gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$) yang kuat dan tajam pada daerah $1743,65 \text{ cm}^{-1}$. Daerah getaran uluran $\text{C}-\text{O}$ ditunjukkan pada daerah $1234,44$ dan $1165,00 \text{ cm}^{-1}$ dengan serapan yang tajam dan kuat ada pada daerah $1165,00 \text{ cm}^{-1}$. Serapan uluran $-\text{C}-\text{C}(=\text{O})-\text{O}-$ ester tersebut dibentuk dari asam-asam tak jenuh. Serapan pada daerah $1658,78 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan serapan dari alkena berbentuk cis.



Gambar 10. Spektrum IR ekstrak lipida dan fraksi pertama

Fraksi pertama selanjutnya diidentifikasi dengan menggunakan $^1\text{H-NMR}$ dengan frekuensi 60 MHz. Pelarut yang digunakan adalah CDCl_3 . Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui pergeseran proton pada senyawa yang ada dalam fraksi pertama. Spektra dari $^1\text{H-NMR}$ dapat dilihat pada gambar 11.



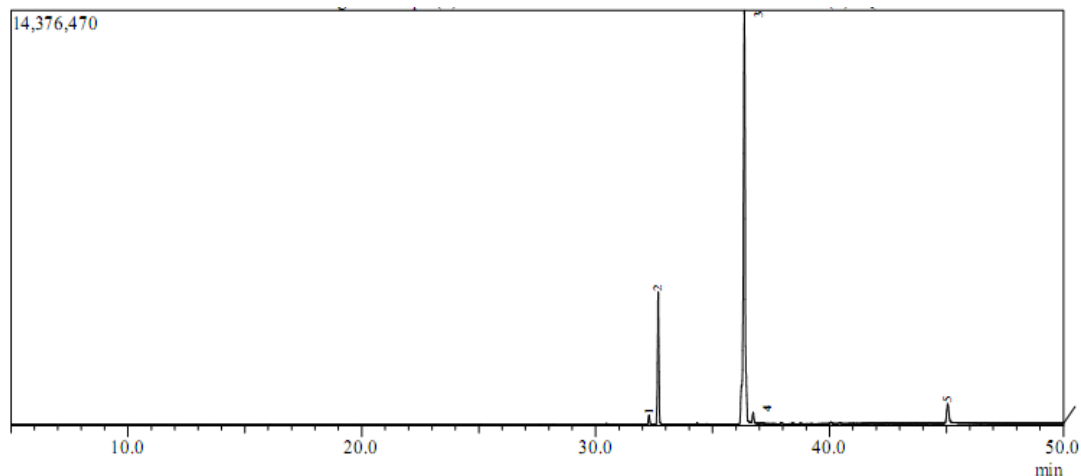
Gambar 11. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ Fraksi Pertama

Spektra $^1\text{H-NMR}$ menghasilkan 5 puncak. Puncak pada daerah 4 – 4,3 ppm (B) merupakan pergeseran dari proton gugus gliserida ($\text{CH}_x\text{-OR}$). Sedangkan pada daerah 2,3 ppm (C) merupakan daerah pergeseran kimia dari proton yang ada pada C- α gugus karbonil ($\alpha\text{-CH}_2/\text{CH}_x\text{-C=O}$). Spektra pada daerah 5 – 6 ppm (A) merupakan pergeseran kimia proton pada ikatan rangkap (HC=CH) rantai panjang asam lemak. Posisinya yang paling jauh ini dikarenakan proton tersebut mengalami *deshielding*. Kondisi ini disebabkan karena adanya elektron phi yang menyebabkan rapat elektronnya menjadi kecil sehingga proton mengalami *deshielding*.

Daerah 1 – 2 ppm (D) menampilkan puncak yang tinggi. Puncak ini merupakan pergeseran kimia dari proton pada gugus metilen ($\text{-CH}_2\text{-}$). Jumlah

gugus metilen yang cukup banyak dapat mengakibatkan munculnya pergeseran yang berdekatan. Akibatnya pergeseran-pergeseran tersebut akan bergabung menjadi suatu satu puncak tinggi berbentuk singlet. Sedangkan pada daerah 0 – 1 ppm (E) merupakan pergeseran dari gugus metil (R-CH_3).

Fraksi pertama kemudian diidentifikasi dengan menggunakan GC-MS dengan kondisi yang tertera dalam lampiran2. Tujuannya adalah untuk mengetahui senyawa-senyawa yang terkandung dalam fraksi pertama hasil kolom kromatografi modifikasi. Untuk dapat dideteksi dengan menggunakan GC-MS, fraksi pertama perlu dilakukan perlakuan pendahuluan berupa reaksi transesterifikasi. Hal ini dikarenakan titik didih dari fraksi pertama yang merupakan senyawa trigliserida melebihi kapasitas dari alat yaitu melebihi suhu $300\text{ }^{\circ}\text{C}$. Spekta hasil dari identifikasi menggunakan GC-MS dapat dilihat pada gambar 12 sedangkan senyawa yang dideteksi dengan spektroskopi massa dapat dilihat pada lampiran 3 dan tabel 4.



Gambar 12. Kromatogram GC-MS untuk fraksi pertama

Berdasarkan profil yang dihasilkan dari kromatogram GC-MS, menunjukkan hanya ada 5 puncak yang dapat dideteksi. Untuk mengidentifikasi senyawa dilakukan dengan membandingkan spektra massa puncak-puncak tersebut dengan spektra hasil dari penelusuran pustaka. Senyawa yang dipilih adalah senyawa yang mempunyai SI (*Similarity Index*) yang paling tinggi, dengan

anggapan bahwa senyawa tersebut memiliki kemiripan yang cukup besar dengan senyawa yang ada dalam fraksi pertama kolom kromatografi modifikasi.

Data GC-MS menunjukkan bahwa senyawa yang dihasilkan berupa metil asam lemak yang merupakan hasil transesterifikasi. Dilihat dari prosentase asam lemak, asam lemak yang terbanyak adalah asam oleat. Senyawa lain yang terdeteksi adalah senyawa baru dengan prosentase sebesar 3,83% yaitu dioktil phtalat. Senyawa ini terdeteksi pada GC-MS berada paling akhir dengan titik didih yang cukup tinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya.

Berdasarkan data-data yang dihasilkan dari identifikasi menggunakan IR, $^1\text{H-NMR}$ dan GC-MS dapat diambil suatu kesimpulan bahwa senyawa dalam fraksi pertama merupakan suatu trigliserida. Dari data spektra serapan IR, menunjukkan adanya gugus-gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa ester (RCOOR) yaitu terdiri dari serapan gugus karbonil ($-\text{CO}-$) dan gugus ($-\text{C-O}-$). Rantai R yang terikat pada gugus $-\text{COO}-$ ini adalah berupa rantai lurus alkana yang mempunyai 7 atom karbon atau lebih dan juga terdapat ikatan rangkap berbentuk cis pada salah satu ikatan alkana tersebut. Sedangkan dari data yang ditunjukkan pada spektrum dari $^1\text{H-NMR}$ mengindikasikan bahwa fraksi pertama merupakan suatu trigliserida. Dibuktikan dengan adanya gugus gliserida (CH_x-OR), ikatan rangkap asam lemak ($\text{HC}=\text{CH}$) dan proton pada $\text{C-}\alpha$ ($\text{CH}_x-\text{C}=\text{O}$). Identifikasi dengan GC-MS menunjukkan senyawa yang dihasilkan adalah suatu asam lemak yang merupakan penyusun dari rantai ester trigliserida.

Hasil dari identifikasi senyawa dengan menggunakan GC-MS bila dibandingkan dengan senyawa asam lemak yang ada dalam ekstrak buah merah akan memiliki prosentase kandungan yang cukup signifikan. Namun dalam hal ini yang terdeteksi dalam fraksi pertama hanya sebagian dari senyawa asam lemak yang terdapat dalam ekstrak buah merah. Asam lemak tersebut adalah asam lemak yang berada dalam bentuk trigliserida, sedangkan asam lemak yang tidak terdeteksi pada GC-MS merupakan asam lemak bebas yang ada dalam fraksi kedua hasil pemisahan dengan kolom kromatografi.

Tabel 8. Perbandingan Data GC-MS dengan Kandungan dalam Ekstrak Buah Merah

Data GC-MS		Asam Lemak dalam Ekstrak Buah Merah	
% Area	Senyawa	Asam Lemak	% Kandungan
-	-	Asam dekanat	0,035
-	-	Asam laurat	0,249
-	-	Asam miristat	0,168
-	-	Asam pentadekanat	0,292
17,07	Metil palmitat (B)	Asam palmitat	14,336
1,27	Metil stearat (A)	Asam stearat	1,801
1,10	Metil palmitoleat (D)	Asam palmitoleat	1,022
76,72	Metil oleat (C)	Asam oleat	56,213
-	-	Asam linoleat	5,257
-	-	Asam linolenat	3,248
-	-	Asam eikosanat	0,786
3,83	Dioktil phtalat (E)	-	-

D. Pengaruh Alumina dan MnO_2

Pemisahan menggunakan KLT dengan fasa diam berupa silika gel:alumina menyebabkan trigliserida dapat terpisah dengan baik dari beta-karoten. Walaupun ada sebagian dari beta-karoten yang masih bercampur dengan trigliserida. Penambahan MnO_2 pada fasa diam silika gel:alumina menyebabkan sebagian beta-karoten yang bercampur dengan trigliserida mengalami perubahan dan akhirnya trigliserida terbebas dari beta-karoten.

Pengaruh alumina pada pemisahan dengan menggunakan kolom kromatografi yang telah dimodifikasi tidak dapat diketahui. Namun pengaruh dari adanya oksidator MnO_2 dalam fasa diam sangat jelas terlihat. Hal tersebut terlihat ketika elusi telah mencapai $\frac{1}{4}$ panjang kolom yaitu dengan adanya degradasi warna dari sampel ekstrak buah merah. Semula sampel berwarna merah pekat, setelah beberapa saat warna tersebut mulai pudar dan akhirnya menghilang.

Kolom kromatografi modifikasi merupakan suatu sistem alir besar yang mempunyai suatu oksidator dan katalis basa dalam fasa diam. Sampel ekstrak buah merah adalah suatu bahan yang mengandung trigliserida, tokoferol dan beta-karoten. Asam lemak berikatan rangkap yang merupakan penyusun rantai trigliserida dapat mengalami oksidasi, beta-karoten juga dapat mengalami reaksi

oksidasi sekaligus dapat mencegah oksidasi dari asam lemak, sedangkan tokoferol mencegah oksidasi dari beta-karoten dan trigliserida. Kemungkinan yang terjadi adalah trigliserida, tokoferol dan beta-karoten melewati sistem dibawa oleh eluen secara bersama-sama. Senyawa-senyawa tersebut bertemu dengan oksidator, sehingga terjadi kompetisi antara trigliserida, tokoferol dan beta-karoten untuk bereaksi dengan oksidator.

MnO₂ merupakan suatu agen pengoksidasi yaitu dapat mengoksidasi senyawa tertentu dengan mendonorkan oksigennya atau menerima elektron dari senyawa lain. Dengan adanya alumina sebagai katalis basa yang mempunyai atom oksigen dengan muatan yang tinggi serta pH mendekati 10, diduga dapat meningkatkan aktivitas dari MnO₂ sebagai oksidator yaitu dengan memberikan elektronnya pada MnO₂ sehingga MnO₂ dapat dengan mudah melepaskan oksigennya. Aktivitas dari oksidator yang semakin kuat dapat dengan mudah mengoksidasi ikatan rangkap. Beta-karoten yang mengandung ikatan rangkap lebih banyak akan bereaksi terlebih dulu dengan oksidator dibandingkan dengan trigliserida. Hal ini ditunjukkan dari warna sampel yang semakin menghilang selama elusi. Ketika beta-karoten telah habis bereaksi dengan oksidator, trigliserida akan bereaksi dengan oksidator yang tersisa dalam kolom. Namun, reaksi oksidasi tersebut akan dihalangi oleh tokoferol yang juga merupakan suatu antioksidan. Sehingga trigliserida akan terlindungi sampai elusi selesai. Hal ini ditunjukkan dengan hasil identifikasi yang menyatakan bahwa senyawa yang dihasilkan dari pemisahan dengan kolom adalah suatu trigliserida. Kandungan beta-karoten didalam ekstrak buah merah ± 300 ppm. Perbandingan antara beta-karoten yang bereaksi dengan oksidator adalah kurang lebih 1:129. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 4.

Hasil yang diperoleh dari penelitian ini menunjukkan bahwa dengan menggunakan modifikasi fasa diam dalam kromatografi yaitu berupa penambahan suatu oksidator dan alumina kedalam silika gel, akan didapatkan suatu senyawa berupa trigliserida yang terpisah dari senyawa-senyawa lain yang ada didalam sampel melalui suatu reaksi oksidasi.

E. Pengaruh Antioksidan Terhadap Asam Lemak

Asam lemak tak jenuh dan senyawa antioksidan mempunyai hubungan yang saling berkaitan. Ikatan rangkap dari asam lemak sangat mudah teroksidasi dan membentuk radikal bebas berupa peroksida asam lemak. Didalam tubuh, peroksida tersebut dapat mengakibatkan terjadinya penyakit. Berdasarkan penelitian ini, dengan adanya senyawa antioksidan, trigliserida yang dilewatkan dalam suatu sistem pengoksidasi dapat dipisahkan tanpa merusak atau mengoksidasi asam lemak tak jenuh dalam trigliserida tersebut. Antioksidan melindungi asam lemak tak jenuh dari oksidator dengan mengorbankan dirinya untuk bereaksi dengan oksidator. Namun, bila jumlah oksidator melebihi senyawa antioksidan yang dapat bereaksi dengan oksidator tersebut, akan mengakibatkan asam lemak menjadi tidak terlindungi dari reaksi oksidasi. Senyawa dioktil phtalat yang didapat bersama-sama dengan trigliserida dari hasil pemisahan, diindikasikan sebagai produk hasil dari oksidasi asam lemak tak jenuh setelah antioksidan habis bereaksi dengan oksidator.

Penelitian terhadap ekstrak lipida dengan sistem pengoksidasi telah dilakukan Handayani (2008). Lipida yang dilewatkan melalui sistem yang mengandung oksidator mengakibatkan senyawa dioktil phtalat yang dihasilkan semakin banyak. Selain senyawa tersebut, juga didapat senyawa lain yaitu berupa senyawa bis(2-etilheksil)adipat. Tidak adanya senyawa antioksidan bersama dengan lipida menjadikan lipida sangat mudah teroksidasi. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, bila asam lemak dikonsumsi langsung tanpa adanya senyawa antioksidan, memiliki kemungkinan yang cukup besar untuk dapat menyebabkan asam lemak teroksidasi menjadi radikal bebas.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan sebelumnya dapat diambil kesimpulan bahwa senyawa trigliserida dapat dipisahkan dari senyawa-senyawa lain yang ada dalam ekstrak buah merah menggunakan modifikasi teknik kromatografi kolom yaitu dengan menambahkan alumina dan agen pengoksidasi berupa MnO_2 kedalam silika gel. Senyawa antioksidan dalam ekstrak buah merah akan melindungi trigliserida agar tidak rusak atau teroksidasi selama proses elusi berlangsung menggunakan modifikasi fasa diam tersebut.

B. Saran

Berdasarkan kesimpulan diatas hendaknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai:

1. Mekanisme penghambatan reaksi oksidasi oleh beta-karoten dan tokoferol dalam pemisahan trigliserida menggunakan teknik modifikasi fasa diam kromatografi.
2. Teknik modifikasi kolom kromatografi yang lebih efisien sehingga dapat dilakukan untuk pemisahan berulang-ulang.

DAFTAR PUSTAKA

- Braithwaite, A and Smith, F. J. 1995. *Chromatographic Methods*. Kluwer Academic Publishers, London
- Budi, I. M. 2001. *Kajian Kandungan Zat Gizi dan Sifat Fisiko Kimia Berbagai Jenis Minyak Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.) Hasil Ekstraksi Secara Tradisional di Kab. Jayawijaya Irian Jaya*. Tesis. Institut Pertanian Bogor
- Budi, I.M., dan Paimin, F. R .2005. *Buah Merah*. Penebar Swadaya, Jakarta
- Burton, G. W. and Ingold. 1984. B-caroten: an Usual Type of Lipid Oxidation. *J.Sci*, 22: 569-573
- Cannell, R.J.P. 1998. *Natural Produk Isolation*. Humana Press, Totowa.
- Christian, Gary D. 1994. *Analytical Chemistry*. Fifth Edition. University of Washington. John Wiley & Sons, USA.
- deMan, J.M. 1997. *Kimia Makanan*. Edisi Kedua. ITB, Bandung.
- Dermawan, R., Nyuwan, S. B. dan Wijayanti. 2005. *Pakar Bicara Buah Merah*. Majalah Trubus. Volume 425
- Duryatmo, S. 2005. *Bukti Ilmiah Buah Merah*. Majalah Trubus. Volume 425
- Giamalva, H. D., Church, D. F. and Pryor, W. A. 1985. A Comparison of The Rates of Ozonation of Biological Antioxidant and Oleate and Linoleate Ester. *Biochems.Biophys. Res. Commun*, 133:733-779
- Gordon, A. J. and Ford, R. A. 1972. *The Chemist's Companion*. John Willey & Sons, New York
- Gulcin, I., Beydemir, S. dan Hisar, O. 2005. Effect of α -tocopherol on Antioxidant Enzymes Activities and Lipid Peroxidation in Rainbow Trout (*Oncorhynchus Mykiss*). *Acta Veterinaria Hungarica* 53 (4), pp, 425-433
- Handayani, R. A. 2008. *Modifikasi Teknik Kromatografi Lapis Tipis untuk Pemisahan Asam Lemak dari Ekstrak Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.) sebagai Turunannya*. Universitas Sebelas Maret, Surakarta
- Hart, H., Craine, L. E. dan Hart, D. J. 2003. *Kimia Organik*. Edisi 11. Erlangga, Jakarta

- Holme, D. J. and Peck, H. 1993. *Analytical Biochemistry*. Longman Singapore Publisher (Pte) Ltd, Singapore
- Jork, H., Funk, W., Fischer, W. and Wimmer, H. 1990. *Thin Layer Chromatography: Reagents and Detector Methods*. VCH, Germany
- Ketaren, S. 1986. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta
- Knothe, G. 2000. Monitoring a Progressing Transesterification Reaction by Fiber-Optic Near Infrared Spectroscopy with Correlation to ^1H Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy. *JAACS*, Vol.7, No.5
- Lehninger, A. L. 1982. *Dasar-dasar Biokimia*. Jilid 1. Erlangga, Jakarta
- Mangan, Y. 2005. *Cara Bijak Menaklukkan Kanker*. Agromedia Pustaka, Jakarta
- Nikolova, Boryana and Damyanova. 2002. Lipids Analysis by Thin Layer Chromatography. *Encyclopedia of Chromatography*
- Page, D. S. 1997. *Prinsip-Prinsip Biokimia*. Edisi Kedua. Erlangga, Jakarta
- Paiva, S.A.R. and Robert, M.R. 1999. β -Caroten and Other Carotenoids as Antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, Vol.18, 5, 426-433.
- Palleros, D. R. 2000. *Experimental Organic Chemistry*. John Wiley and Sons. New York
- Rao, C.N. and Rao, B.S.N. 1970. Absorption of Dietary Carotenes in Human Subjects. *The American Journal of Clinical Nutrition*. Vol.23, 1, pp. 105-109
- Renkonsen, O. 1961. Breakdown of Lecithin on Aluminium Oxide Column. *J. Lipid Research*. Vol 3, 2.
- Rumanthi, E. 2008. *Modifikasi Teknik Kromatografi Untuk Pemisahan Karotenoid dari Sari Buah Merah (Pandanus conoideus Lamk.) Sebagai Turunannya*. Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Schultz, H. W. 1962. *Symposium on Foods: Lipids and Their Oxidation*. The AVI Publishing Company Inc., Westport
- Skoor, D. A., West, D. M., and Holler, F. J. 1993. *Analytical Chemistry an Introduction*. Sixth Edition. Saunders College Publishing, USA.

- Skoog, D. A. 1998. *Principles of Instrumental Analysis*. Fifth Edition. Brooks/Cole-Thomson Learning, USA
- Smith, M. B. 1946. *Organic Synthesis*. 2nd Edition. Mc.Graw Hill, New York
- Smith, J.G. 2006. *Organic Chemistry*. Mc.Graw Hill, New York
- Sofia, H. 2005. *Bukti Ilmiah Buah Merah*. Majalah Trubus. Volume 425
- Widodo, W., Suwarso, W. P., Utari, T. dan Purwaningsih, H. 2002. Aplikasi Reaksi Katalisis Heterogen untuk Pembuatan Vanili Sintetik dari Eugenol Minyak Cengkeh. *Makara, Sains*, Volume 6, No.3
- Winarno, F. G. 2002. *Kimia Pangan dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta
- Wirahadikusuma. 1985. *Biokimia: Metabolisme Energi, Karbohidrat dan Lipid*. Penerbit ITB, Bandung

LAMPIRAN 1**Kolom Kromatografi Modifikasi**

Kalsifikasi	Keterangan
Fasa diam	Silika : Alumina (2:3) + MnO ₂ 3 %
Panjang kolom	19 cm
Diameter kolom	2 cm
Death volume	$\pm 60 \text{ cm}^3$
Lapisan fasa diam	17 lapis @ 3 gram
Eluen	Petroleum eter : Dietil eter
Berat sampel	1.25 gram
Jumlah fraksi	65 buah
Volume fraksi	@2 mL

LAMPIRAN 2

Kondisi Operasi GC-MS QP2010S Shimadzu

Jenis kolom : Rastek Rxi-5MS panjang 30 m, diameter 0,25 mm

Kondisi kolom

Suhu awal : 100°C

Waktu awal : 5 menit

Kenaikan suhu: 5°C/menit

Suhu akhir : 280°C

Suhu injektor : 290°C

Aliran kolom : 0,5 ml/menit

Tekanan : 22,0 kPa

Jenis detector : FTD

Gas pembawa : He

Total flow : 80 ml/menit

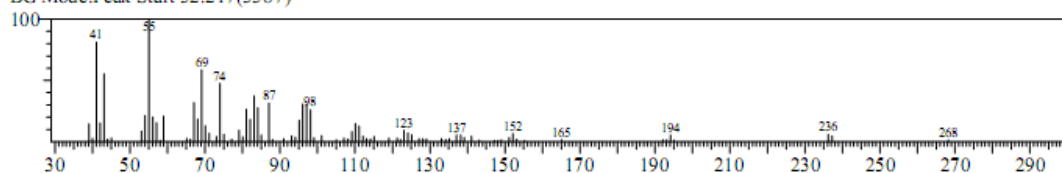
Split rasio : 153,0

LAMPIRAN 3

Hasil Analisis MS Puncak A

<< Target >>

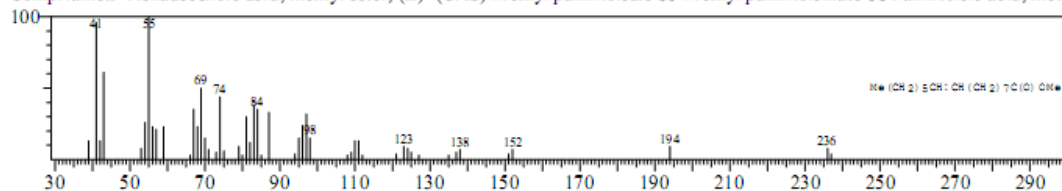
Line#:1 R.Time:32.283(Scan#:3395) MassPeaks:85
 RawMode:Single 32.283(3395) BasePeak:55.05(26979)
 BG Mode:Peak Start 32.217(3387)



Hit#:1 Entry:178117 Library:WILEY7.LIB

SI:95 Formula:C17 H32 O2 CAS:1120-25-8 MolWeight:268 RetIndex:0

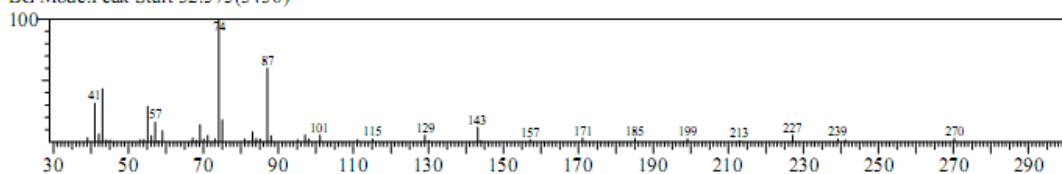
CompName:9-Hexadecenoic acid, methyl ester, (Z)- (CAS) Methyl palmitoleate SS Methyl palmitoleinate SS Palmitoleic acid, meth



Hasil Analisis MS Puncak B

<< Target >>

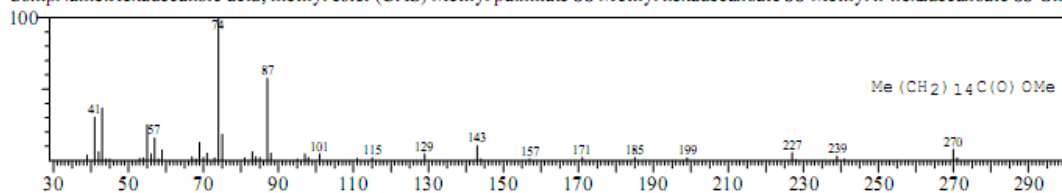
Line#:2 R.Time:32.675(Scan#:3442) MassPeaks:47
 RawMode:Single 32.675(3442) BasePeak:74.05(932791)
 BG Mode:Peak Start 32.575(3430)



Hit#:1 Entry:180433 Library:WILEY7.LIB

SI:97 Formula:C17 H34 O2 CAS:112-39-0 MolWeight:270 RetIndex:0

CompName:Hexadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl palmitate SS Methyl hexadecanoate SS Methyl n-hexadecanoate SS Uni



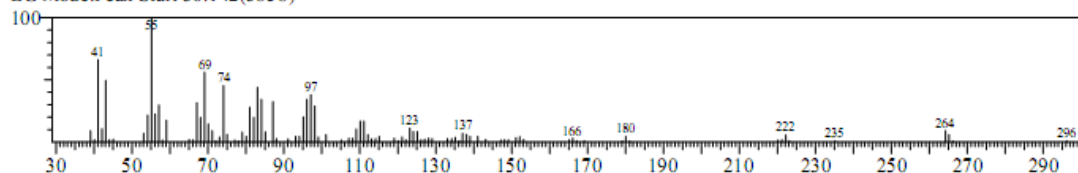
Hasil Analisis MS Puncak C

<< Target >>

Line#:3 R.Time:36.358(Scan#:3884) MassPeaks:97

RawMode:Single 36.358(3884) BasePeak:55.10(1250301)

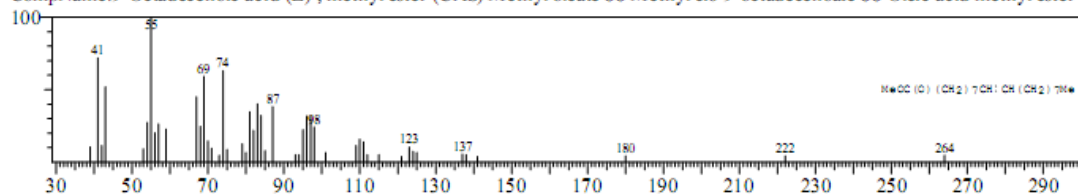
BG Mode:Peak Start 36.142(3858)



Hit#:1 Entry:207865 Library:WILEY7.LIB

SI:96 Formula:C19 H36 O2 CAS:112-62-9 MolWeight:296 RetIndex:0

CompName:9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS) Methyl oleate SS Methyl cis-9-octadecenoate SS Oleic acid methyl ester S



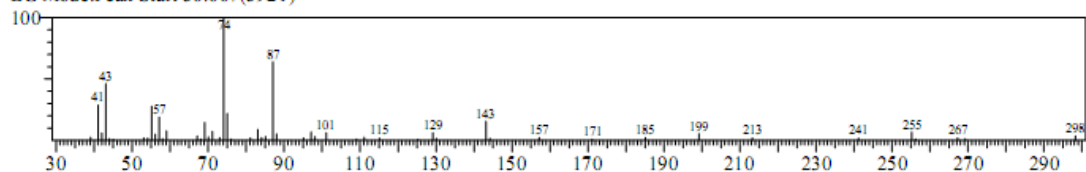
Hasil Analisis MS Puncak D

<< Target >>

Line#:4 R.Time:36.733(Scan#:3929) MassPeaks:51

RawMode:Single 36.733(3929) BasePeak:74.05(65318)

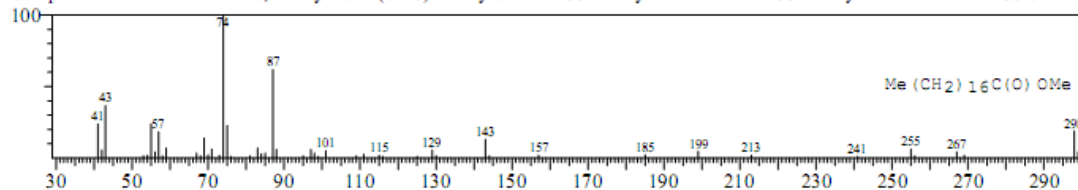
BG Mode:Peak Start 36.667(3921)



Hit#:1 Entry:209841 Library:WILEY7.LIB

SI:95 Formula:C19 H38 O2 CAS:112-61-8 MolWeight:298 RetIndex:0

CompName:Octadecanoic acid, methyl ester (CAS) Methyl stearate SS Methyl octadecanoate SS Methyl n-octadecanoate SS Stearic



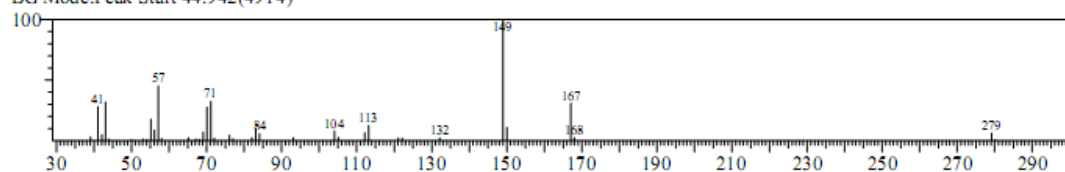
Hasil Analisis MS Puncak E

<< Target >>

Line#:5 R.Time:45.050(Scan#:4927) MassPeaks:38

RawMode:Single 45.050(4927) BasePeak:149.00(141219)

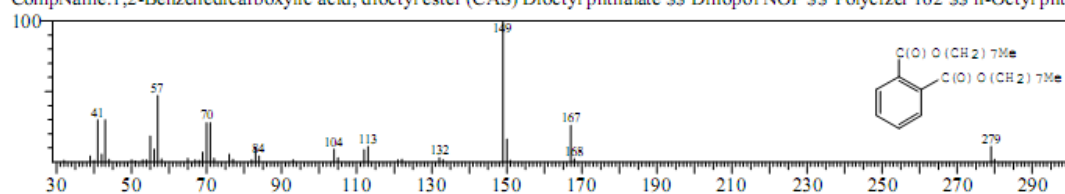
BG Mode:Peak Start 44.942(4914)



Hit#:1 Entry:279545 Library:WILEY7.LIB

SI:97 Formula:C₂₄H₃₈O₄ CAS:117-84-0 MolWeight:390 RetIndex:0

CompName:1,2-Benzenedicarboxylic acid, dioctyl ester (CAS) Dioctyl phthalate \$\$ Dinopol NOP \$\$ Polycizer 162 \$\$ n-Octyl phth



LAMPIRAN 4

Perhitungan Rasio Beta-karoten dan MnO_2

Konsentrasi beta-karoten = 378 ppm = 0,0378%

Sampel ekstrak buah merah = 1,25 gram

Berat beta-karoten pada sampel = $1,25 \times 0,0378\% = 0,04725$ gram

Oksidator MnO_2 3% yang bereaksi = $0,09 \times 11 \text{ layer} = 0,99$ gram

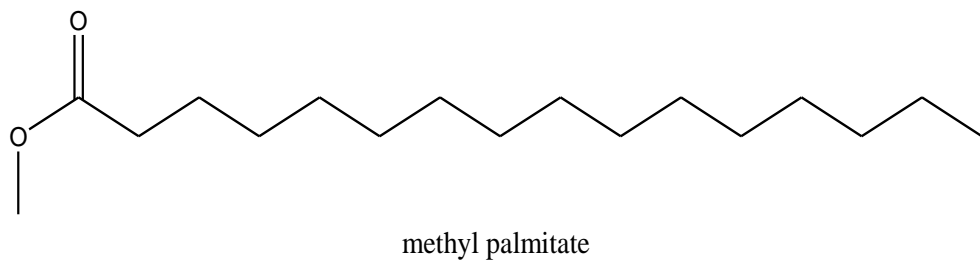
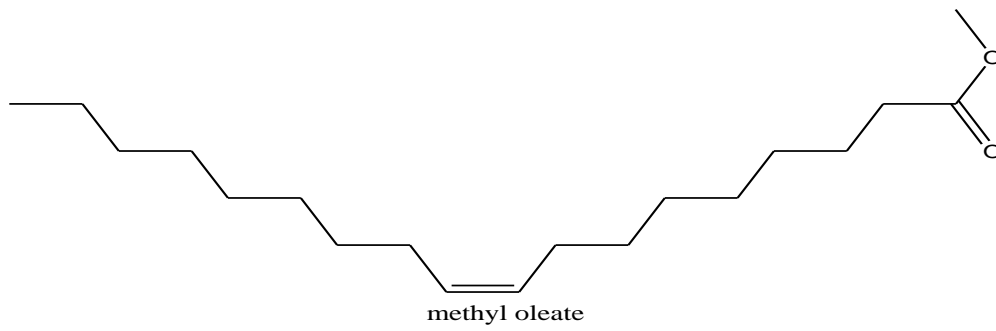
Mol beta-karoten = $0,04725 / 537 = 8,8 \times 10^{-5}$ mol

Mol oksidator = $0,99 / 87 = 0,0114$ mol

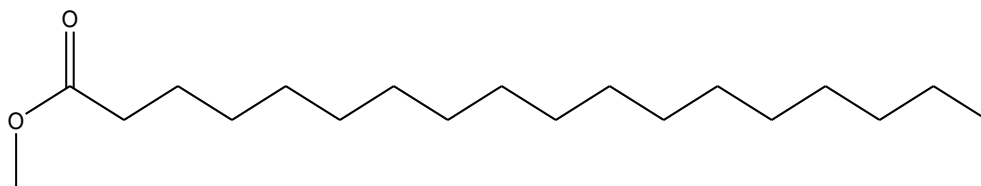
Perbandingan Antioksidan dan Oksidator yang bereaksi

= $8,8 \times 10^{-5} : 0,0114$

= 1:129

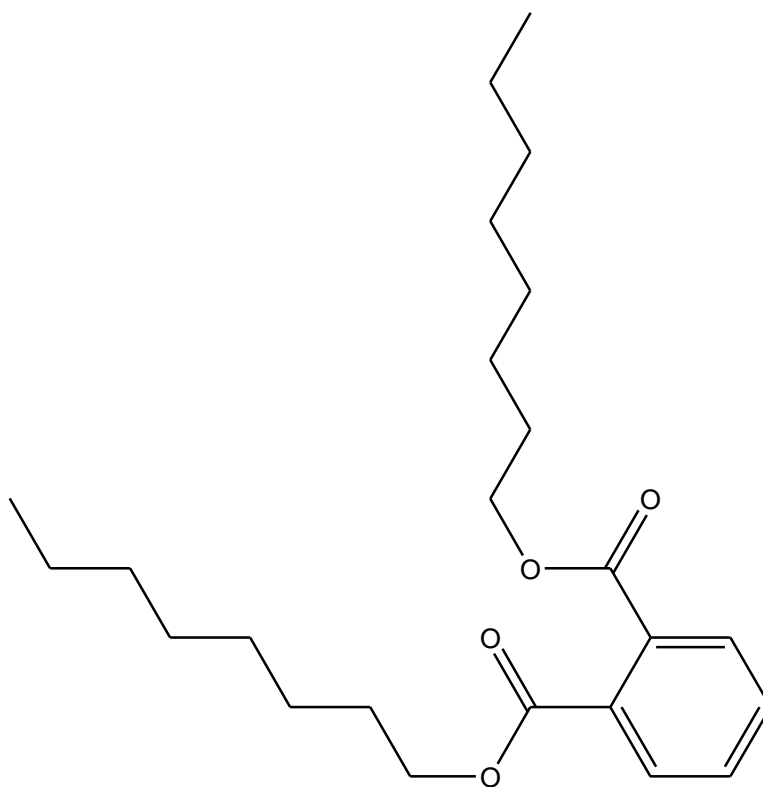
LAMPIRAN 5**A. Struktur metil palmitoleat****B. Struktur metil palmitat****C. Struktur metil oleat**

D. Struktur metil stearat



methyl stearate

E. Struktur dioktil phtalat



dioctyl phthalate